

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**TESE**

**Avaliação Clínica e Eficácia da Associação de Moxidectina de Liberação Lenta e Doxiciclina no Tratamento de Cães Naturalmente Infectados com *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**

**Bruno Ricardo Soares Alberigi da Silva**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E EFICÁCIA DA ASSOCIAÇÃO DE  
MOXIDECTINA DE LIBERAÇÃO LENTA E DOXICICLINA NO  
TRATAMENTO DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM  
*Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**

**BRUNO RICARDO SOARES ALBERIGI DA SILVA**

*Sob a Orientação do Professor*

**Júlio Israel Fernandes**

**Jonimar Pereira Paiva** (*in memoriam*)

*e Co-orientação da Professora*

**Norma Vollmer Labarthe**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas

Seropédica, RJ

Julho de 2019

S586a Silva, Bruno Ricardo Soares Alberigi da , 1987-  
AVALIAÇÃO CLÍNICA E EFICÁCIA DA ASSOCIAÇÃO DE  
MOXIDECTINA DE LIBERAÇÃO LENTA E DOXICICLINA NO  
TRATAMENTO DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM  
Dirofilaria immitis (Leidy, 1856) / Bruno Ricardo  
Soares Alberigi da Silva. - Seropédica, 2019.  
81 f.: il.

Orientador: Júlio Israel Fernandes.  
Coorientadora: Norma Vollmer Labarthe.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, Pós Graduação em Medicina Veterinária  
(Patologia e Ciências Clínicas), 2019.

1. Lactonas macrocíclicas. 2. Tetraciclinas. 3.  
Dirofilariose. I. Fernandes, Júlio Israel, 1979-,  
orient. II. Labarthe, Norma Vollmer, 1952-, coorient.  
III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós  
Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e  
Ciências Clínicas). IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINARIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**BRUNO RICARDO SOARES ALBERIGI DA SILVA**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM 05/07/2019

---

Júlio Israel Fernandes, DSc. UFRRJ  
(Orientador)

---

Thaís Ribeiro Correia Azevedo, DSc. UFRRJ

---

Cristiano Chaves Pessoa da Veiga, DSc. UFRRJ

---

Flavya Mendes de Almeida, DSc.. UFF

---

Leucio Câmara Alves, DSc.. UFRPE

Dedico este trabalho a um ao meu eterno mestre Jonimar Pereira Paiva (*in memoriam*), que me ensinou a arte de ensinar.

## AGRADECIMENTOS

Ao Jonimar Pereira Paiva, meu eterno orientador, agradeço por todos ensinamentos, por toda a paciência e pela disponibilidade de ouvir e me orientar na vida acadêmica e pessoal. Agradeço o prazer ter tido a oportunidade de ter te conhecido, e ter sido seu orientado, e carregarei comigo todo aprendizado adquirido, junto com as memórias fantásticas que acumulei ao seu lado por todos os anos que convivemos e principalmente, pelo presente da minha última lembrança sua ter sido um sorriso seu.

Ao Julio Israel Fernandes, por me aceitar de braços abertos, num momento tão difícil para todos, se preocupando em me acolher de coração, e me orientando num momento tão delicado, e pela compreensão, minha gratidão será eterna.

À Norma Vollmer Labarthe, não tenho palavras para agradecer o acolhimento, o incentivo, os ensinamentos, por ter sido uma força motriz colossal que me fez seguir a diante sempre confiante, mesmo quando eu não achava que seria possível, a conclusão desse trabalho não seria possível sem você, muito obrigado.

À Denise do Vale Soares, minha esposa, pela força em todos os momentos da minha vida, do início ao fim, agradeço pela amizade, parceria, por estar ao meu lado e por ter me dado fôlego quando não tinha mais ar. Agradeço pela compreensão pelos momentos de ausência em nossa família, e que nosso amor e amizade dure ao longo dos anos.

Aos meus pais Ricardo José Alberigi da Silva e Leda Maria Soares da Silva, pela criação, amor e sacrifícios que fizeram para que eu pudesse seguir em meus estudos. Agradeço a compreensão pela minha ausência no papel de filhos em muitos momentos que me dediquei a esse trabalho.

À Fabiana Batalha Knauckfuss pela ajuda na elaboração e execução da análise estatística, além da paciência extraordinária e por estar disponível para me ajudar e explicar as análises independente de dia e hora, muito obrigado!

Ao amigo Alexandre Bendas, que me apresentou a um mundo completamente novo, obrigado pela amizade, parceria, conselhos, por muita coisa que já passamos, não tenho palavras para agradecer por tudo que você já fez por mim, muito obrigado.

À Danielly Belmonte pelo incentivo por toda minha carreira, desde início acreditando no meu potencial, sempre me incentivando a voar mais distante, passamos por momentos muito difíceis, a conclusão desse trabalho, e a perpetuação da memória de nosso eterno orientador foi possível graças a você, obrigado por tudo.

Ao Instituto de Especialidades em Medicina veterinária (IEMEV) por ceder espaço para realização do estudo. Assim como serei grato a todos os médicos veterinários e funcionários de todos os setores pela ajuda nas diferentes etapas.

À Suzane Gallardo, obrigado pela amizade por todos esses anos, pela ajudar incansável na realização dos exames, na ajuda da coleta de material, e pelas discussões na interpretação dos resultados das amostras.

À Mariana Cazaux e toda a equipe do laboratório de patologia clínica do IEMEV, Rafael Azevedo e Carolina Seixas, obrigado pela ajuda por realizar o processamento de amostras no meio da rotina louca do dia a dia!

À Ana Carolina Rodrigues pela ajuda na interpretação dos exames radiográficos, e pela disponibilidade de ajudar sempre, mesmo logo após o nascimento de seu filho.

À Nathalia Lemos pela amizade e companheirismo, algumas pessoas surgem de repente em nossas vidas e nos surpreendem e nos marcam de tal maneira, espero que possamos continuar nossa amizade ao longo dos anos.

Ao meu irmão de vida, Marcos Morgado, que mesmo com meu desaparecimento constante durante meu empenho acadêmico, sempre se mostrou compreensivo e sempre esteve ao meu lado para dar apoio, obrigado irmão.

Ao “CARDIOTEAM” essa família que passei a fazer parte, onde pude compartilhar conhecimentos e adquirir muitos também! Como parafraseava nosso mestre, “o Eu deu lugar para nós” Carol, Zé, Mario, Daniel, Diana, Marcela, Magna, Nathalia, Matheus, karen, Juliana, Andressa (Japa), Renan, Sofia, Isabele, Gabriel, Aline, Patrícia, Camila, muito obrigado por permitirem participar dessa família.

À Carolina Aben Athar e à Rosemar Freitas, pela parceria, por dividir comigo a responsabilidade de “irmãos mais velhos” pela constatare troca, e discussões produtivas sobre nossos trabalhos, casos clínicos e desafios do dia a dia pessoal e profissional

À Maria de Penha, pelo suporte emocional, por ter me feito seguir meus sonhos e desejos, mesmo quando quis deixá-los para trás.

Aos meus alunos, obrigado por me ensinarem tanto, acreditem aprendo mais com vocês todos os dias do que vocês podem imaginar! Agradeço a compreensão principalmente de nessa reta final, não ter estado tão presente para orientá-los quanto gostaria.

Aos Animais e tutores que participaram do estudo obrigado pela possibilidade de aprender com vocês

A ZOETIS obrigado por tornar a realização desse projeto realidade, e por oferecer os subsídios necessários para que ela pudesse ter sido concluída

A Ourofino Saúde Animal, por ter doado a doxiciclina para o tratamento dos animais do projeto

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Silva, Bruno Ricardo Soares Alberigi. **Avaliação Clínica e Eficácia da Associação de Moxidectina de Liberação Lenta e Doxiciclina no Tratamento de Cães Naturalmente Infectados com *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**. 2019. 110f. Tese (Doutorado em Ciências, Ciências clínicas). Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Cães infectados com *Dirofilaria immitis* são propensos a desenvolver sinais clínicos graves que comprometem seu bem-estar podendo levá-los ao óbito. As lesões mais graves e frequentes são pulmonares, que evoluem e agravam com o tempo, influenciando negativamente a função cardíaca. Em função da doença que pode se desenvolver devido à infecção, o tratamento deve ser concentrado na eliminação dos parasitos o mais rapidamente possível e com o mínimo de efeitos colaterais. Como essa infecção canina é frequente no Brasil e o medicamento padrão para seu tratamento não é registrado no País, o tratamento adalticida só pode ser realizado com estratégias alternativas como, por exemplo, o uso de doxiciclina associada a lactonas macrocíclicas. Entretanto, dentre as preocupações com essa terapia estão a possível seleção de populações resistentes às lactonas macrocíclicas e o tempo necessário que para alcançar cura parasitológica. Sendo assim objetivou-se avaliar a segurança e a eficácia adalticida da utilização semestral de moxidectina de liberação lenta associada a ciclos de doxiciclina por 30 dias. Após consentimento dos tutores, 17 cães que tiveram a infecção natural confirmada pela antigenemia específica receberam 0,5mg/kg de moxidectina de liberação lenta por via subcutânea e administração oral de doxiciclina (10mg/kg BID) por 30 dias. A terapia instituída era repetida a cada seis meses até que o cão fosse considerado livre de infecção ao apresentar um segundo resultado de pesquisa de antígenos negativo seis meses depois do primeiro. Exames de sangue foram realizados para avaliar a segurança do tratamento e exames radiográfico de tórax, ecodopplercardiografico e físico foram realizados para monitorar as lesões. O número de fêmeas (53%) foi semelhante ao número de machos (47%), os animais ganharam peso durante o estudo e as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie. No dia 0 a maioria dos animais (15) era microfilarêmica e no dia 150 todos os animais apresentavam-se amicrofilaremicos. No dia +180 a maioria dos cães soroconverteu (58,8%) e 29,4% dos que não tinham soroconvertido, o fizeram no dia +360. Dois cães, apesar de terem se tornado amicrofilaremicos, não soroconverteram até o dia +360 de tratamento. Os exames realizados demonstraram que independentemente do tempo transcorrido entre o início do tratamento e a soroconversão não houve agravamento das condições clínicas dos animais. Conclui-se que o tratamento da associação de moxidectina de liberação lenta e doxiciclina é uma alternativa no tratamento de cães com dirofilariose em países onde o tratamento adalticida não está disponível.

**Palavras chaves:** Lactonas macrocíclicas, tetraciclina, dirofilariose

## ABSTRACT

Silva, Bruno Ricardo Soares Alberigi. **Clinical Evaluation and Effectiveness of the Slow Release Moxidectin and Doxycycline Association in the Treatment of Naturally Infected Dogs with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**. 2019. 110p. Thesis (Doctorate in Sciences, Clinical Sciences). Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019

*Dirofilaria immitis* infected dogs may develop severe symptoms which compromise their life quality and can even cause death. Pulmonary lesions tend to aggravate over time and are the most severe and frequent lesions observed during the course of the disease. Once the pulmonary lesions are present they impact on the cardiac function negatively. Considering that the disease can threaten the animal's life, the treatment must eliminate the parasites as fast as possible and with the least side effects. Since this canine infection is frequent in Brazil and that the standard medication is not registered for use in the Country, adulticidal treatment can only be achieved implementing alternative strategies such as the use of doxycycline and macrocyclic lactones. However, among the drawbacks of this kind of therapy are the potential for the selection of macrocyclic lactones resistant *D. immitis* populations and the time spam to achieve the elimination of the worms that can worst the existing lesions or initiate new ones. Therefore, the aim of this study was to evaluate safety and efficacy of the biannual treatment with slow release moxidectin associated with 30 days cycles of doxycycline. After the owner's consent 17 dogs naturally infected as confirmed by the presence of specific antigens in their blood samples received an injection of slow release moxidectin (0.5mg/kg) and the started oral administration of doxycycline (10mg/kg BID) for 30 days. This therapy was repeated every six months until the dog presented two negative antigen test results six months apart. Blood work was performed to evaluate the safety of the treatment and chest x-rays, Doppler echocardiography and physical examinations were performed to monitor the lesions. The number of females (53%) was similar to the number of males (47%), the animals gained weight and the blood work showed results within the reference range for the species. On day 0 the majority of the animals (15/17) were microfilaremic and on day +150 all had become amicrofilaremic. On day +180 most dogs had seroconverted (58.8%) and on day +360 other 29.4%. All dogs that were seronegative on day 180 confirmed the serologic status on day +360 and were considered free of the infection. Two dogs, although being amicrofilaremic on day +150, did not seroconvert on day +360. All the exams showed that despite the time spent from the beginning of treatment to seroconversion, no worsening of the dog's clinical conditions could be detected. Therefore, according to the results observed herein it can be said that the treatment of canine heartworm using moxidectin and doxycycline was safe and efficacious and that it is an alternative in countries where the standard adulticidal treatment is unavailable.

**Keywords:** Macrocyclic Lactone, Tetracyclin, Dirofilariasis

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de animais segundo avaliações pulmonares ao longo do tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina, de acordo com o grau das alterações. ....34

Tabela 2. Comparação entre as classificações das alterações radiográficas pulmonares (ausente, discreta, moderada ou grave) observadas no dia 0 e no momento da soroconversão em cães submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina. ....36

Tabela 3. Comparação entre os métodos de avaliação cardíaca realizados no dia 0 e no momento da soroconversão em cães submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina comparados pelo teste de Friedman (Fr) e pelo teste T de student .....37

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Sinais clínicos frequentes em cães portadores de dirofilariose e seus principais mecanismos de origem .....	10
---	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Microfilária de *Dirofilaria immitis*. A- Extremidade cefálica; B- Extremidade caudal. Técnica de Knott modificada (Newton e Wright, 1956). Fonte: Celeste Souza – Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia Fundação Oswaldo Cruz – FIORCRUZ-RJ. ....4
- Figura 2A. Desenho esquemático demonstrando a relação anatômica do ventrículo direito (VD - formato de "Lua crescente") com o do ventrículo esquerdo (VE - aspecto circular), sendo separados pelo septo interventricular. B. Dilatação do ventrículo direito (VD), alterando a geometria do ventrículo esquerdo (VE) devido a retificação do septo interventricular. Fonte: adaptado de Haddad et al. (2008) ..... 7
- Figura 3. A. Paciente canino apresentando aumento de volume abdominal, secundária ascite por aumento da pressão venosa na veia cava caudal, Fonte: GOMPF (2008) B. Paciente portador de dirofilariose, com condição corporal de caquexia, secundária a má absorção, Fonte: MIRCEAN et al. (2017). .... 8
- Figura 4. Insuficiência cardíaca congestiva direita em cão, causando distensão jugular proeminente (seta). Fonte: WARE (2011b)..... 8
- Figura 5. Interação da presença de *Dirofilaria immitis* com a fisiopatogenia da disfunção cardíaca Fonte: Adaptado de (WIEDEMANN; MATTHAY, 1989) ..... 9
- Figura 6.A. Imagem radiográfica de tórax na posição ventrodorsal evidenciando aumento de tronco pulmonar (círculo); B. Imagem radiográfica de tórax na posição ventrodorsal (setas), evidenciando aumento do calibre da artéria e veia pulmonar caudal; C. radiográfica de tórax evidenciando padrão alveolar e intersticial (setas). Fonte: Arquivo pessoal..... 12
- Figura 7. Imagem ecocardiográfica em modo bidimensional, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecoicas, em corte longitudinal medindo 1,3mm de diâmetro, imagem compatível com presença do parasito *Dirofilaria immitis*. Fonte: Luigi Venco. .... 13
- Figura 8. Inflamação perivascular. (A) Pulmão de um cão infectado experimentalmente com *Dirofilaria immitis* tratado com melasormina + lactona macrocíclica. (B) Pulmão de um cão infectado experimentalmente com *D. immitis* que recebeu doxiciclina no protocolo de tratamento (hematoxilina e eosina, 40X). Fonte: Kramer et al. (2008)..... 17
- Figura 9. Diagrama dos procedimentos para inclusão de cães portadores de *Dirofilaria immitis* no estudo B ..... 19
- Figura 10. Diagrama de acompanhamento do tratamento dos cães infectado por *Dirofilaria immitis*, incluídos no estudo até o seu momento de liberação. Figura 9. Diagrama dos procedimentos para inclusão de cães portadores de *Dirofilaria immitis* no estudo.B..... 20
- Figura 11. Técnica de contagem de microfilárias para diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Esfregaço de sangue corado pela técnica de Giemsa para identificação microscópica de microfilárias (setas) em lâminas de esfregaço sanguíneo para contagem de microfilárias corado pelo Giemsa (aumento 100x). Fonte: Arquivo pessoal. ....21

Figura 12. Imagem radiográfica de tórax, na posição ventrodorsal, evidenciando aumento do calibre da artéria pulmonar caudal (seta azul), quando comparada com o diâmetro da nona costela (seta amarela). Fonte: Ana Carolina Mota (IEMEV). .....	23
Figura 13. Imagem radiográfica de cão na posição lateral direita, com divisão em quadrantes. Fonte: Ana Carolina Mota (IEMEV-RJ). .....	24
Figura 14. Imagem ecocardiográfica corte transverso da base, realizado a partir da janela paraesternal longitudinal modificado evidenciando presença de linhas paralelas hiperecoicas (seta branca), medindo cerca de 1,3mm de diâmetro no ramo direito da artéria pulmonar. Fonte: Arquivo pessoal.....	24
Figura 15. A - Imagem ecocardiográfica obtida pelo corte apical quatro câmaras modificado, evidenciando A- mensuração da alteração da área fracionária do ventrículo direito (tracejado verde); B - Imagem ecocardiográfica em modo-M para a determinação da excursão sistólica do plano anular tricuspídeo. Fonte: Arquivo Pessoal.....	26
Figura 16. A) Imagem ecodopplercardiográfica do fluxo transtricuspídeo e B) Imagem ecodopplercardiográfica da análise com Doppler tecidual pulsado para avaliação da função ventricular direita. S: velocidade de excursão sistólica do miocárdio, E: pico de velocidade diastólica tardia. Fonte: Arquivo pessoal .....	27
Figura 17A. Imagem ecocardiográfica obtida pelo corte apical quatro câmaras, permitindo a identificação de insuficiência da valva tricúspide (seta verde); B- Imagem ecodopplercardiograma do estudo por meio do Doppler contínuo, evidenciando a pressão sistólica arte arterial pulmonar estimada (PSAP=63.3mmHg). Fonte: arquivo pessoal. ....	27
Figura 18. Índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) para no modo-M Para avaliação da pressão .....	28
Figura 19. Gráficos evidenciando a comparação entre as medias dos valores de eosinófilos (A) e plaquetas (B) ao longo dos tratamento, pelo teste de Friedman. ....	30
Figura 20. Dispersão do peso corporal de cães naturalmente infectados por <i>Dirofilaria immitis</i> submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina no dia 0 e ao final tratamento. ....	31
Figura 21. Box Splot das médias, desvios-padrão, mínimo e máximo da concentração de microfilárias por em amostras sanguíneas de cães naturalmente infectados por <i>Dirofilaria immitis</i> submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina coletadas nos dias 0 (D0) e 30 (D30).log <sub>10</sub> <i>microfilaria/mL</i> .....	32
Figura 22. Imagem ecocardiográfica em modo bidimensional, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecoicas, no interior da artéria pulmonar, em corte longitudinal, indicativo de presença de parasitos de <i>Dirofilaria immitis</i> , em cão naturalmente infectado antes de receber o tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal.....	33
Figura 23 Imagem radiográfica de tórax, na projeção ventrodorsal (VD) evidenciando aumento de artéria pulmonar caudal (seta amarela) e aumento moderado de tronco pulmonar	

(círculo amarelo) em cão naturalmente infectado por *Diroflaria immitis*, antes do tratamento (Dia 0). Fonte Arquivo Pessoal ..... 34

Figura 24 Imagem radiográfica de tórax na projeção latero-lateral esquerda, evidenciado discreto padrão micronodular (seta amarela) e grave densificação difusa do parênquima pulmonar (seta branca) em cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*, antes do tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal. .... 35

Figura 25. Imagem radiográfica de tórax, na projeção ventrodorsal (VD) evidenciando aumento atrioventricular direito moderado (seta amarela), em cão naturalmente infectado por *Diroflaria immitis* aos 180 dias de tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal..... 37

Figura 26. Imagem ecocardiográfica do estudo por meio do Doppler contínuo, evidenciado a pressão sistólica arterial pulmonar estimada (PSAP=63.3mmHg). Fonte: Arquivo Pessoal ... 37

## LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

$\mu\text{m}$	Micrometros
Ag	Antígeno
AVDD	rea do ventrículo direito na diástole
AVDS	rea do ventrículo esquerdo na sístole
Cm	Centímetro
DNA	cido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FAC	<i>Fractional area change</i> ou variação fracional de rea
Fr	Teste de Friedman
G	Gravidade
H <sub>2</sub> O	gua
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IDAP	ndice de distensibilidade da artéria pulmonar
IEMEV	Instituto de Especialidades em Medicina Veterinária
kg	Quilograma
L1	Larva de primeiro estdio
L2	Larva de segundo estdio
L3	Larva de terceiro estdio
L4	Larva de quarto estdio
MDR1	Gene de Resistência a Múltiplas Drogas 1
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Modo-M	Modo unidimensional
Onda A	Velocidade máxima do fluxo transtricspide na fase de contração atrial pelo doppler tecidual
Onda At	Velocidade máxima do fluxo transtricspide de enchimento rápido pelo doppler tecidual
Onda E	Velocidade máxima do fluxo transtricspide na fase de contração atrial
Onda Et	Velocidade máxima do fluxo transtricspide de enchimento rápido
PAP	Pressão arterial pulmonar
PCR	Reação em cadeia da polimerase

PSAP	Pressão sistólica arterial pulmonar
RVP	Resistência vascular periférica
t	Teste t de student
TAPSE	<i>Tricuspid annular plane systolic excursion</i> ou excursão sistólica do plano anular tricuspídeo
TDI	<i>Tissue Doppler imagin ou Doppler tecidual</i>
VD	Ventrículo direito
VE	Ventrículo esquerdo

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITARATURA.....</b>	<b>3</b>
1.1 Agentes Etiológicos da Dirofilariose .....	3
1.1.1 <i>Dirofilaria immitis</i> .....	3
1.1.2 <i>Wolbachia</i> sp. Hertig, 1936 .....	4
1.2 Ciclo Biológico.....	4
1.3 Dirofilariose Canina .....	5
1.4 Diagnóstico da Infecção por <i>Dirofilaria immitis</i> .....	10
1.4.1 Pesquisa de microfilárias .....	10
1.4.2 Pesquisa de antígenos .....	11
1.4.3 Detecção de DNA dos parasitos por reação em cadeia de polimerase (PCR).....	11
1.5 Acompanhamento Clínico da Doença .....	12
1.5.1 Radiografia de tórax .....	12
1.5.2 Ecodopplercardiograma.....	13
1.6 Profilaxia .....	14
1.7 Tratamento da Infecção Canina por <i>Dirofilaria immitis</i> .....	15
1.7.1 Doxíciclina .....	15
1.7.2 Lactonas macrocíclicas.....	17
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
2.1 Considerações Éticas .....	18
2.2 Localização do Estudo.....	18
2.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão.....	18
2.4 Delineamento Experimental .....	18
2.5 Tratamento.....	19
2.6 Avaliação da Segurança do Tratamento .....	20
2.7 Avaliação da Eficácia do Tratamento.....	20
2.7.1 Avaliação parasitológica .....	20
2.7.2 Exame físico .....	22
2.7.3 Avaliação pulmonar.....	22
2.7.4 Avaliação cardíaca.....	25
2.8 Análise dos dados .....	28

<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
3.1 Animais.....	30
3.2 Avaliação da Segurança do Tratamento .....	30
3.3 Avaliação da Eficácia do Tratamento.....	31
3.3.1 Avaliação parasitológica .....	31
3.3.2 Avaliação pulmonar.....	32
3.3.3 Avaliação cardíaca.....	36
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>43</b>
<b>6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>57</b>
Anexo A. Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais .....	57
Anexo B. Consentimento livre e esclarecido dos responsáveis pelos animais.....	58
Anexo C. Ficha de identificação do paciente e dos dados do exame clínico .....	59
Anexo D – Indicações, dosagem e administração da moxidectina de liberação lenta (Proheart®-SR12) segundo a bula.....	60
Anexo E. Apresentação de trabalho científico em forma de banner, na V Semana da pós graduação de medicina veterinária da UFRRJ, com dados obtidos na fase de inclusão do estudo.....	61
Anexo F. Certificado de premiação de 1º lugar na categoria de Artigo de Pesquisa – Pós graduação na V Semana da pós graduação de medicina veterinária da UFRRJ, .....	62
Anexo G. Apresentação de trabalho científico em forma de banner, no 27th Conference of the World Association for the Advancements of Veterinary Parasitology (WAAVP-2019).....	63

## INTRODUÇÃO

Os habitats principais de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Raillet e Henry, 1911, são artérias pulmonares e ventrículo direito de canídeos. Adultos se multiplicam por reprodução sexuada, liberando microfílaras na circulação. Esses helmintos albergam bactérias intracelulares do gênero *Wolbachia* e são dependentes desses endossimbiontes para manter suas funções básicas como reprodução e mudanças dos estádios larvais. Antibióticos do grupo das tetraciclinas agem sobre essas bactérias e apresentam efeito negativo sobre os filarídeos.

Os sinais clínicos da dirofilariose canina são variáveis, indo desde ausentes até quadros graves incluindo caquexia, ascite, dispneia e intolerância total ao exercício e morte, em decorrência de insuficiência cardíaca congestiva direita. O histórico clínico pode revelar perda de peso, diminuição da tolerância ao exercício, letargia, tosse, dispneia, síncope e distensão abdominal. As alterações mais observadas são intolerância ao exercício, tosse improdutiva e perda de apetite. Ao exame físico podem ser detectados sopro por insuficiência valvar, distensão e pulso da veia jugular e ascite. Cães com acometimento do parênquima pulmonar podem apresentar tosse, dispneia, cianose e crepitação à ausculta pulmonar. Nos casos de tromboembolismo pulmonar pode ocorrer febre e hemoptise. As alterações endoteliais, parenquimatosas e a própria presença dos parasitos adultos na artéria pulmonar geram aumento progressivo da pós-carga, com hipertensão pulmonar e remodelamento das câmaras cardíacas direitas, seja por hipertrofia ou dilatação dependendo da carga parasitária e tempo de evolução. As alterações inflamatórias do interstício pulmonar, principalmente perivasculares, desencadeadas pela endoarterite, sofrem agravamento pela liberação de antígenos dos endossimbiontes do gênero *Wolbachia*

A ecocardiografia pode revelar a presença de helmintos nas câmaras cardíacas ou artérias pulmonares dos hospedeiros infectados devendo ser utilizada para avaliação da função cardíaca e da hipertensão pulmonar.

As radiografias torácicas fornecem informações quanto à gravidade de: i) proeminência da artéria pulmonar principal, ii) aumento das artérias pulmonares lobares, iii) aumento ou padrão anormal das artérias pulmonares periféricas, além de alterações pulmonares, alveolares e intersticiais, e aumento ventricular direito.

O tratamento das infecções por *D. immitis* recomendado inclui produtos à base de dicloridrato de melarsomina, indisponível no mercado brasileiro. Assim, o tratamento aduítico só pode ser realizado com doxiciclina associada ao uso de lactonas macrocíclicas (ivermectina ou milbemicina oxima ou moxidectina ou selamectina). Com este tratamento alternativo, ao se obter dois resultados de pesquisa de antígenos negativos com intervalo de 6 meses, pode-se considerar o animal livre da infecção.

Infecções caninas por *D. immitis* são frequentes no território brasileiro e, embora haja produtos para prevenção da infecção registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não há produtos registrados para tratamento da infecção já instalada. Para que se possa tratar os cães infectados faz-se necessário desenvolver estratégias terapêuticas alternativas com base no conhecimento científico. A literatura apresenta que a associação de moxidectina tópica mensal (10 imidacloprida+2,5% moxidectina) com doxiciclina mostrou resultados satisfatórios. A utilização dessa associação baseia-se no fato de a doxiciclina fragilizar os helmintos adultos pela redução populacional de seus endossimbiontes (*Wolbachia* spp), facilitando a ação da lactona macrocíclica, além de a concentração plasmática de moxidectina elevar-se pela administração continuada, mantendo-se na concentração máxima após a quarta dose. Entretanto, dentre as preocupações com a

terapia alternativa, estão a possível seleção de populações resistentes dos helmintos às lactonas macrocíclicas e o longo tempo necessário que demandam para alcançar cura parasitológica.

Esse tempo é considerado longo o suficiente para que as lesões causadas pela infecção progridam e agravem a doença. Assim, objetivou-se com o estudo avaliar se o uso de moxidectina de liberação lenta por via subcutânea semestral associado a doxiciclina foi eficaz como tratamento adalticida da parasitose em cães naturalmente infectados por *D. immitis*

# 1 REVISÃO DE LITARATURA

## 1.1 Agentes Etiológicos da Dirofilariose

Os agentes etiológicos da dirofilariose são nematoides da espécie *Dirofilaria immitis* (LEIDY, 1856) e seus endossimbiontes, bactérias da família Ehrlichaceae, gênero *Wolbachia* (BANDI et al., 2001; HISE et al., 2004; SIMÓN et al., 2007). Os endossimbiontes se concentram nas cordas hipodérmicas longitudinais tanto de larvas quanto de formas adultas e no trato reprodutivo das fêmeas. Essas bactérias são indispensáveis para que os espécimes de *D. immitis* mantenham suas funções vitais e reprodutivas em funcionamento normal. A colonização das oogônias e dos oócitos por *Wolbachia* sp. garante a colonização de embriões e, dessa forma, todos os espécimes de *D. immitis* já sejam concebidos com sua carga de endossimbiontes (BANDI et al., 2001).

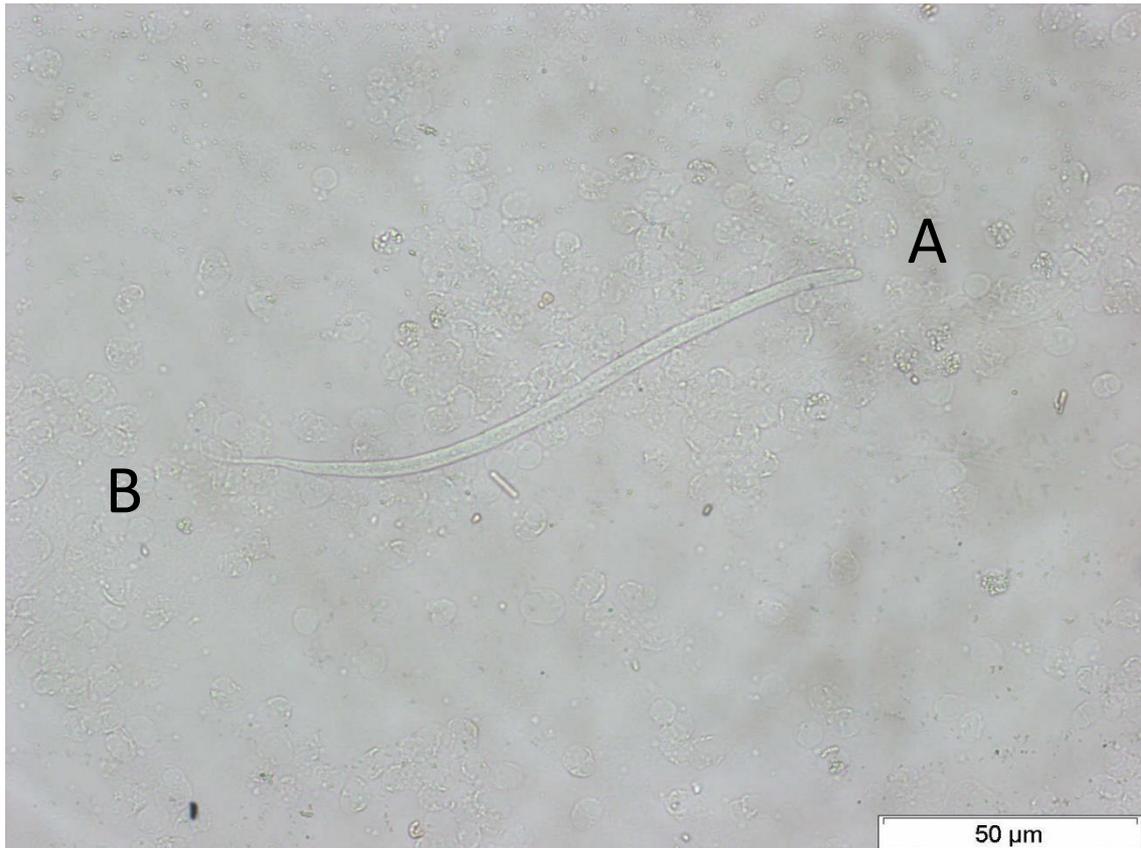
### 1.1.1 *Dirofilaria immitis*

Classificação sistemática segundo Smythe et al. (2006):

- Reino Animalia
- Filo Nematoda
- Classe Secernentea
- Ordem Spirurida
- Superfamília Filarioidea (Weiland, 1858) Stiles 1907
- Família Onchocercidae (Leiper, 1911)
- Subfamília Dirofilariinae Sandground, 1921
- Gênero *Dirofilaria* Railliet & Henry, 1911
- Espécie *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Railliet & Henry, 1911

*Dirofilaria immitis* é um nematóide transmitidos por culicídeos, cujo habitat principal são as artérias pulmonares e as câmaras cardíacas direitas de canídeos (KAZACOS; EDBERG, 1979; NIELSEN, 1983; MULLEY; STARR, 1984; GARCIA; VOIGHT, 1989; PHILLIPS; SCHECK, 1991; GORTAZAR et al., 1994).

Os adultos apresentam dimorfismo sexual, sendo as fêmeas maiores que os machos, podendo medir mais de 30 cm de comprimento e os machos 20 cm em média (LOK, 1988). As formas imaturas encontradas na circulação sanguínea dos cães infectados são larvas de primeiro estágio (microfilárias) que apresentam as seguintes características morfológicas ao exame de Knott modificado por Newton e Wright (1956): comprimento  $301,77 \pm 6,29 \mu\text{m}$ ; largura  $6,3 \pm 0,26 \mu\text{m}$ ; extremidade cefálica ovalada e extremidade caudal reta (Figura 1) (LOK, 1988; BOWMAN; LYNN, 1999).



**Figura 1.** Microfilária de *Dirofilaria immitis*. A- Extremidade cefálica; B- Extremidade caudal. Técnica de Knott modificada (Newton e Wright, 1956). Fonte: Celeste Souza – Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ-RJ.

#### 1.1.2 *Wolbachia* sp. Hertig, 1936

Classificação sistemática segundo Dumler et al. (2001):

Reino Bacteria (Haeckel, 1894) WOESE et. al., 1990

Filo Proteobacterias GARRITY et. al., 2005

Classe Alphaproteobacterias GARRITY et. al., 2006

Ordem Rickettsiales GIESZCZYKIEWICZ, 1939

Família Anaplasmataceae PHILIP, 1957

Gênero *Wolbachia* HERTIG, 1936

São bactérias intracelulares gram negativas que quando expostas a antibióticos bacteriostáticos da classe das tetraciclina tem sua população reduzida, embora formas de resistência permaneçam viáveis. Quando a pressão bacteriostática é interrompida as formas resistentes ressurgem e voltam a colonizar os tecidos dos nematoides, que tem suas funções vitais e reprodutivas reestabelecidas (KOZEK, 2005; PAIVA, 2009).

#### 1.2 Ciclo Biológico de *D.immitis*

Quando presentes em seu habitat (luz das artérias pulmonares e câmaras cardíacas direitas), os parasitos adultos (machos e fêmeas) se reproduzem liberando microfilarías (L1)

na circulação sanguínea. Quando hospedeiros intermediários (culicídeos) realizam o repasto sanguíneo ingerem-nas juntamente com o sangue (KARTMAN, 1953; TAYLOR, 1960; BRADLEY; NAYAR, 1987) e então as larvas fazem duas mudas nos tecidos do mosquito, tornando-se infectantes (larvas de terceiro estágio – L3). Após migram para as peças bucais dos mosquitos e quando eles realizarem o próximo repasto sanguíneo, as larvas migram ativamente para a epiderme do hospedeiro. Elas penetram pelo orifício deixado pela probóscida e, quando o hospedeiro for de uma espécie susceptível à infecção, as larvas ao alcançarem o tecido subcutâneo realizarão outra muda, chegando a L4. Nos cães, a muda de L3 para L4 se dá em três a quatro dias (SOULSBY, 1968; LOK, 1988). A última muda ocorre 50 a 70 dias após a infecção (KNIGHT, 1987). Esses adultos jovens apresentam grande capacidade de migração, atingindo abdome, tórax, cabeça, pescoço e veias, inclusive a jugular. Chegam ao ventrículo direito e artérias pulmonares em 70 a 110 dias após a infecção e continuam se desenvolvendo. Três meses após a chegada ao habitat, os parasitos atingem a maturidade sexual e o ciclo se completa com a liberação de microfíliarias na circulação sanguínea (Knight, 1987; Lok, 1988).

Os parasitos adultos desencadeiam alterações fisiopatológicas que se relacionam diretamente com a manifestação clínica apresentada pelos hospedeiros. O grau dessas alterações e das repercussões clínicas são influenciados por fatores como: a carga parasitária, o tempo de infecção, a resposta imune do hospedeiro e o nível de atividade física do hospedeiro (CALVERT; RAWLINGS, 2001; GUERREO, 2005).

### **1.3 Dirofilariose Canina**

As manifestações clínicas presentes em cães com dirofilariose são diversas e inerentes à patogenia relacionada à presença do parasito, seus endossimbiontes e às sequelas que causam (RAWLINGS, 1986; MACNEE, 1994; LAPA et al., 2006; MCCALL et al., 2008; LABARTHE et al., 2009; MIRCEAN et al., 2017). Os sinais clínicos são sempre relacionados ao sistema cardiorrespiratório, podendo se perpetuar por diferentes mecanismos mesmo após a eliminação da infecção (RAWLINGS et al., 1977; RAWLINGS, 1986; SASAKI et al., 1992; NAEIJE, 2005; GRANDI et al., 2007; VENCO, 2007; MCCALL et al., 2008; CANTARELLA et al., 2010; KELLIHAN; STEPIEN, 2010). A doença se inicia em consequência da ação traumática dos parasitos adultos no endotélio das artérias pulmonares (RAWLINGS, 1986; CALVERT et al., 1998). Como eles não se fixam nos vasos, se mantêm no habitat nadando contracorrente com movimentos ondulatórios. Nesse processo a extremidade posterior dos helmintos chicoteia o endotélio, o que gera uma reação inflamatória local (RAWLINGS, 1986). Tanto assim que as células do endotélio se apresentam edemaciadas e com as junções intercelulares alargadas, poucos dias após a chegada das formas juvenis às artérias pulmonares caudais. Neutrófilos se aderem no local e se concentram no espaço intercelular. Na sequência, áreas do subendotélio são expostas e então há adesão de plaquetas que se ativam. As lesões endoteliais resultam em espessamento da íntima com adesão de leucócitos às paredes. Em resposta à liberação de fator de crescimento pelas plaquetas ativadas, há multiplicação das células musculares da túnica média, que migram para a superfície endovascular. Essas células musculares juntamente com colágeno formam vilosidades que se projetam para luz do vaso (RAWLINGS, 1986; CALVERT et al., 1998). As lesões tendem a ser mais graves quanto maior for a carga parasitária e quanto maior for o tempo em que a infecção persista (RAWLINGS, 1986; RIDYARD, 2005; LABARTHE et al., 2009).

Estas alterações resultam na redução da complacência e do lúmen dos vasos e na perda da sua integridade, o que permite a perfusão de fluido, células e proteínas levando ao

desenvolvimento de inflamação do parênquima pulmonar (RAWLINGS, 1986; SUTTON, 1988) que, com a cronicidade do processo, resulta em fibrose do tecido pulmonar (SIMÓN et al., 2012). Além disso, com a intensa ativação plaquetária mediada pela presença dos parasitos, pode ocorrer a formação de trombos que podem chegar a obstruir o fluxo sanguíneo dos vasos pulmonares (RAWLINGS, 1986; RIDYARD, 2005, TAKASHIMA et al., 2017). A ativação plaquetária pode ainda resultar em coagulação intravascular disseminada, uma vez que a formação de coágulos aumenta o consumo de plaquetas comprometendo a hemostasia (RAWLINGS, 1986; CALVERT et al., 1998).

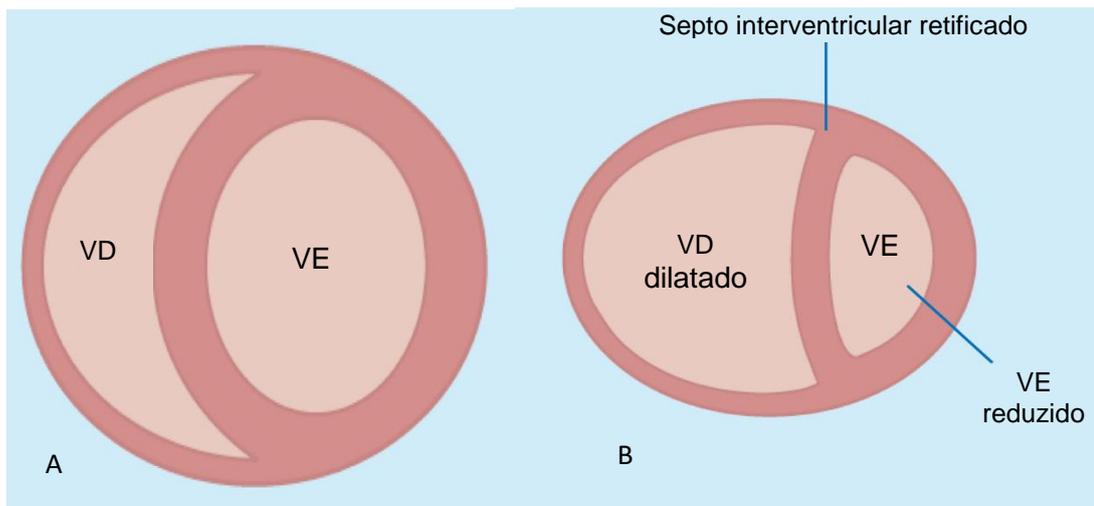
O parênquima pulmonar então libera mediadores químicos locais que resultam em vasoconstricção das regiões acometidas e assim redireciona o fluxo sanguíneo pulmonar para regiões pulmonares preservadas (MCHAFFIE, 2012). Entretanto, à medida em que a doença progride, outras áreas pulmonares serão afetadas e passarão pelo mesmo processo de vasoconstricção. Assim, o que inicialmente era compensatório passa a aumentar a resistência vascular pulmonar (RVP) e a agravar o quadro clínico (CALVERT et al., 1998; MCHAFFIE, 2012). Outro fator que agrava a inflamação pulmonar aumentando a RVP é a reação do leito vascular pulmonar induzida por *Wolbachia* sp. (MCHAFFIE, 2012). Esse processo inflamatório pulmonar pode, em alguns cães, levar ao acúmulo de líquido intersticial pulmonar e alteração na permeabilidade pulmonar, permitindo que esse líquido adentre as pequenas vias aéreas. Quando realizada a ausculta pulmonar, é possível notar o aumento de ruídos ásperos descontínuos (crepitações), devido à passagem de ar pelas vias aéreas com líquido (RAWLINGS, 1986; ATWELL, 1988; BOWMAN; ATKINS, 2009).

Em resumo, o esgotamento dos mecanismos compensatórios associado à alteração morfológica das paredes arteriais, à diminuição do diâmetro luminal devido às vilosidades e à presença de trombos agravados pela inflamação induzida por *Wolbachia* sp., leva ao aumento da RVP que, de localizada passa a disseminada e assim resulta no estabelecimento da hipertensão pulmonar (GRANDI et al., 2007; SIMÓN et al., 2012)

Com a cronicidade da inflamação dos vasos e dos pulmões, associada à presença de trombos e à subsequente formação de tecido fibroso nos pulmões a hematose é prejudicada, se traduzindo em maior esforço para captação de oxigênio caracterizando a dispneia (RAWLINGS, 1986).

A repercussão cardíaca secundária às alterações pulmonares (Cor pulmonale) é consequência da diminuição do volume sanguíneo ejetado pelo VD que ocorre quando a HAP se instala, levando ao aumento do volume ventricular direito em decorrência do aumento da força de trabalho para ejetar sangue para os pulmões. Com o aumento da pressão dentro do VD, o aparato valvar tricúspide não resiste e o processo culmina em insuficiência da valva tricúspide. Esses eventos prejudicam a função ventricular direita e eventualmente a função do ventrículo esquerdo, uma vez que ocorre uma grande mudança no volume ventricular direito, isso acarreta em redução do volume do ventrículo esquerdo, devido a retificação (deslocamento para esquerda) do septo interventricular (Figura 2) (JESSUP et al., 1987; MACNEE, 1994; RENDER et al., 1995).

Quando a hipotensão sistêmica ocorre o débito cardíaco pode ser insuficiente para suprir o sistema nervoso central levando o animal a apresentar sinais neurológicos, inclusive síncope (WIEDEMANN; MATTHAY, 1989; CALVERT, 2008). Outro mecanismo que pode levar à síncope nesses pacientes é a presença de HAP em estágio avançado, quando o débito cardíaco do VD é insuficiente para enviar o sangue para os pulmões, fazendo com que o volume de sangue oxigenado seja insuficiente para suprir as demandas metabólicas do sistema nervoso central (WARE, 2011c) além das demandas tissulares da musculatura estriada esquelética, culminando em intolerância ao exercício e letargia (RAWLINGS, 1986).



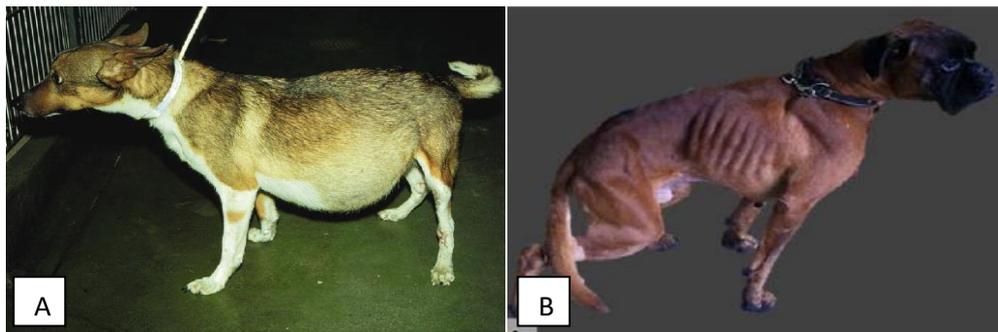
**Figura 2.** Desenho esquemático demonstrando a relação anatômica do ventrículo direito (VD - formato de "Lua crescente") com o do ventrículo esquerdo (VE - aspecto circular), sendo separados pelo septo interventricular. B. Dilatação do ventrículo direito (VD), alterando a geometria do ventrículo esquerdo (VE) devido a retificação do septo interventricular. Fonte: adaptado de Haddad et al. (2008).

Outra consequência do aumento do volume do VD e da pressão dentro dele é o aumento da demanda por oxigênio pelo miocárdio sob estresse. Como a hematose já está comprometida pela redução no volume de sangue que chega aos pulmões, a maior disponibilização de oxigênio para o miocárdio não ocorre e assim haverá isquemia de áreas do miocárdio, comprometendo seu funcionamento (WIEDEMANN; MATTHAY, 1989; HADDAD et al., 2008).

Ao exame físico a insuficiência de tricúspide pode ser representada como sopro porém em alguns cães esse achado se relaciona com a presença de parasitos causando turbulência sistólica no óstio tricúspide e por dilatação do anel tricúspide como consequência do Cor pulmonale. Quando presentes na artéria pulmonar, os vermes adultos causam turbulência de sangue na via de saída do ventrículo direito, que também pode ser identificada ao exame físico como sopro em foco pulmonar em alguns cães (ATWELL, 1988).

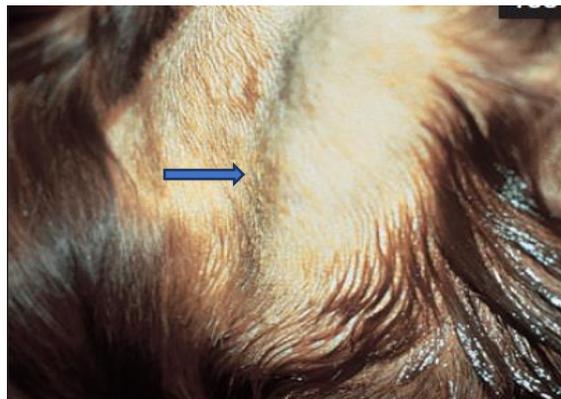
O aumento da pressão dentro das câmaras cardíacas direitas também pode refletir, quando instalado o processo congestivo, em aumento da pressão sanguínea na veia cava caudal, levando ao extravasamento de líquido para a cavidade peritoneal, caracterizando a ascite (Figura 3a). O aumento da pressão na veia cava caudal, também cursa de maneira retrógrada, causando congestão dos vasos hepáticos e consequente hepatomegalia (CALVERT, 2008; WARE, 2011a). A lesão hepática secundária à congestão pode levar à insuficiência hepática, que pode resultar em sintomatologia gastrointestinal, como perda de peso, emaciação, caquexia (Figura 3b) por má absorção e diarreia (WARE, 2011a).

Em resposta ao aumento de pressão intracardíaca o miocárdio também sintetiza peptídeo natriurético tipo-B e o peptídeo natriurético atrial (SILVA et al., 2003). Eles são liberados pelo músculo cardíaco e induzem a natriurese e diurese inibindo o transporte tubular de sódio nos rins. Atuam também causando vasodilatação sistêmica e pulmonar, diminuindo a RVP e inibindo a liberação de renina e aldosterona, o que pode contribuir para manter a homeostase em quadros de ICC (KIMMENADE; JANUZZI, 2009). Uma vez instalada a ICC nos pacientes com dirofilariose, ocorre uma redução da variabilidade da frequência cardíaca, importante marcador de disfunção autonômica relacionada ao aumento da mortalidade em pacientes com ICC (ARORA et al., 2004; WOODSON et al., 2004).



**Figura 3.** A. Paciente canino apresentando aumento de volume abdominal, secundária ascite por aumento da pressão venosa na veia cava caudal, Fonte: GOMPF (2008) B. Paciente portador de dirofilariose, com condição corporal de caquexia, secundária a má absorção, Fonte: MIRCEAN et al. (2017).

Outros sinais clínicos associados ao aumento da pressão venosa são a presença da distensão da veia jugular e pulso jugular sistólico (Figura 4) (ATWELL, 1988). As veias jugulares normalmente não são distendidas e nem apresentam pulso visível ao exame físico, contudo na ICC direita é comum o aumento sustentado da pressão venosa, levando a essa manifestação clínica (ATWELL, 1988; BOWMAN E ATKINS, 2009; WARE, 2011b).

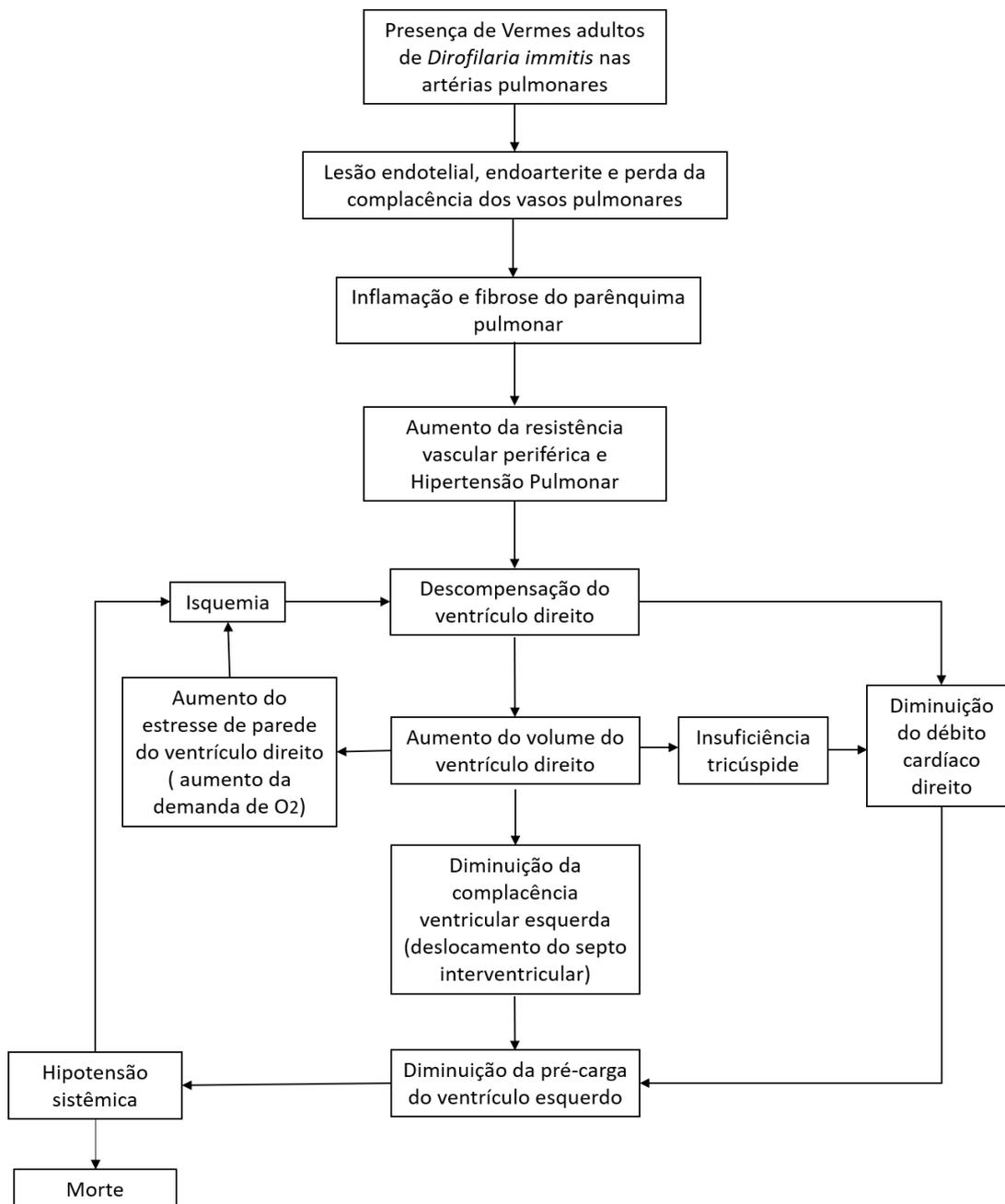


**Figura 4.** Distensão jugular proeminente (seta) em cão devido a Insuficiência cardíaca congestiva direita Fonte: WARE (2011b).

A hipóxia decorrente da redução do débito cardíaco ativa o SRAA aumentando os níveis de angiotensina II (AgII) no sangue, que eleva a atividade simpática; aumenta a reabsorção de sódio e cloro, assim como retenção de H<sub>2</sub>O pelos rins; além de aumentar a liberação de aldosterona; aumento e liberação de vasopressina; e vasoconstrição (STRICKLAND, 2008). Assim, com a redução do débito cardíaco que a infecção provoca, o volume sanguíneo intravascular aumenta e sobrecarrega ainda mais as câmaras cardíacas, aumentando o estresse miocárdico (GIESTAS et al., 2010). Por mais que o miocárdio aumente a força de contração chegará ao limite e as câmaras cardíacas se dilatarão. Com a dilatação das câmaras, as fibras miocárdicas se estiram, e com o tempo a força de contração diminui, comprometendo ainda mais o débito cardíaco e levando à insuficiência cardíaca congestiva, que pode resultar em edema pulmonar e contribuir para a formação de ascite e edema de membros (STRICKLAND, 2008; GIESTAS et al., 2010).

Quando avaliadas de uma maneira geral, as manifestações clínicas relacionadas à dirofilariose canina podem ser classificadas como: *i*) discreta, caracterizada por pacientes assintomáticos ou apenas com manifestação de tosse; *ii*) moderada, caracterizada por quadros de tosse mais intensos, intolerância ao exercício, alteração na ausculta pulmonar; *iii*) grave, quando apresentam tosse intensa, intolerância ao exercício, dispneia, alteração na ausculta cardíaca e na pulmonar, hepatomegalia, síncope, ascite e letargia; e *iv*) Síndrome da veia cava, que se caracteriza pelo aparecimento súbito de letargia, fraqueza, acompanhada de hemoglobinúria e hemoglobinemia (AHS, 2018).

A dirofilariose canina pode se manifestar clinicamente de maneira variada e em consequência de diversos fatores. O resumo das ocorrências geradas pela infecção que levam à disfunção cardíaca pode ser observado na Figura 5. Os principais sinais clínicos e as ocorrências relacionadas podem ser observados no Quadro 1.



**Figura 5.** Interação da presença de *Dirofilaria immitis* com a fisiopatogenia da disfunção cardíaca (Fonte: Adaptado de WIEDEMANN; MATTHAY, 1989).

**Quadro 1.** Sinais clínicos frequentes em cães portadores de dirofilariose e seus principais mecanismos de origem.

Sinal clínico	Mecanismo
Tosse	Alterações vasculares inflamatórias relacionadas à presença do parasito e de <i>Wolbachia</i> sp. estimulam os receptores de tosse nas vias aéreas.
Sopro em foco pulmonar	Presença de parasitos levando a turbulência sistólica na via de saída do ventrículo direito.
Sopro em foco tricúspide	Presença de parasitos levando a turbulência sistólica no óstio tricúspide e por dilatação do anel tricúspide como consequência do Cor pulmonale.
Ruído pulmonar áspero e descontínuo	Acúmulo de líquido intersticial pulmonar (principalmente nas pequenas vias aéreas) devido ao processo inflamatório relacionado à fisiopatogenia da doença.
Síncope	Baixo débito cardíaco, reduzindo a ejeção de sangue para os pulmões, comprometendo a hematose e consequentemente oxigenação do sistema nervoso central.
Ascite	Aumento da pressão venosa no interior da veia cava caudal, levando ao extravasamento de líquido extracelular para a cavidade peritoneal.
Distensão e pulso jugular	Aumento da pressão venosa, secundária ao quadro congestivo.
Perda de peso	Secundária à má absorção e perda de proteínas plasmáticas em cães com insuficiência hepática em decorrência da insuficiência cardíaca direita
Intolerância ao exercício	Redução da função cardíaca direita, resultando em menor oxigenação de sangue para suprir as demandas tissulares da musculatura.

#### 1.4 Diagnóstico da Infecção por *Dirofilaria immitis*

Há vários métodos que permitem o diagnóstico da infecção canina por *D. immitis*. Os métodos mais utilizados na rotina clínica são: pesquisa de microfilárias por concentração ou pesquisa de antígenos (Ag) por ELISA ou imunocromatografia em amostras sanguíneas. Além desses métodos a detecção de DNA dos parasitos por reação em cadeia de polimerase (PCR) também pode ser realizada (NELSON et al., 2005; LABARTHE et al., 2009).

##### 1.4.1 Pesquisa de microfilárias

A técnica considerada padrão ouro para a detecção e identificação específica de microfilárias consiste no teste de Knott modificado por Newton e Wright (1956). Esse teste permite a observação da morfologia das microfilárias e sua mensuração desde que a larva observada e se apresente com corpo e extremidade caudal estendidos (REDINGTON et al., 1977).

Independente da técnica utilizada, a pesquisa de microfilárias sempre deve ser realizada em conjunto com testes de maior sensibilidade e especificidade. Isso porque a correta identificação da espécie pode ser um desafio uma vez que as formas imaturas de diversas espécies são semelhantes. Além disso, há animais infectados que não apresentam microfilaremia (infecções ocultas) (AHS, 2018).

#### 1.4.2 Pesquisa de antígenos

Os testes imunoenzimáticos ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) e imunocromatográfico são recomendados para a detecção dos antígenos de parasitos adultos na circulação sanguínea. Entretanto, o teste ELISA é o mais indicado para o diagnóstico da infecção canina por *D. immitis* (AHS, 2018).

Estes testes são altamente específicos e sensíveis, entretanto a sensibilidade é dependente da presença de fêmeas adultas. A sensibilidade dos testes tende a ser maior quando o hospedeiro alberga mais de uma fêmea adulta, embora haja testes sensíveis o suficiente para detectar infecções por apenas uma fêmea (NELSON et al., 2016; HENRY et al., 2018). Nenhum dos testes é capaz de detectar infecções quando o hospedeiro alberga apenas exemplares machos, gerando assim resultados falso negativos (VELASQUEZ et al., 2014).

A detecção dos antígenos pode ser observada a partir de cinco meses após a infecção e geralmente precede a microfilaremia, embora o inverso já tenha sido observado (PAIVA, 2018 – comunicação pessoal<sup>1</sup>). A utilização de lactonas macrocíclicas em cães portadores da infecção é apontada como possível causa de redução da sensibilidade dos testes. Haveria aumento na produção de anticorpos específicos pelo hospedeiro, o que reduziria a quantidade de antígenos livres disponíveis para serem detectados pelos testes e assim os resultados seriam falsos negativos (MCCALL et al., 2001; LITTLE et al., 2014; DRAKE et al., 2015). Para mitigar essa interferência recomenda-se que as amostras sanguíneas sejam pré-aquecidas a 104°C, durante 10 minutos para desnaturar os anticorpos e liberar os antígenos, facilitando sua detecção pelos testes (LITTLE et al., 2014; DRAKE et al., 2015; CIUCĂ et al., 2016; BENDAS et al., 2017; LITTLE et al., 2018; SAVADELIS et al., 2018). Embora o aquecimento das amostras pareça aumentar a acurácia dos testes para detecção de antígenos, é necessário que se tenha cautela uma vez que sua utilização ainda é controversa podendo ocasionar resultados falso positivos (VENCO et al., 2017; SAVADELIS et al., 2018).

#### 1.4.3 Detecção de DNA dos parasitos por reação em cadeia da polimerase (PCR)

A PCR baseia-se na amplificação de um segmento de DNA específico do parasito utilizando iniciadores (“primers”) espécie específicos. A PCR é uma técnica sensível e precisa para identificar microfilárias de diferentes espécies (GENCHI et al., 2007) entretanto, resultados falso negativos podem ser encontrados em casos de infecção amicrofilarêmica (ROSSI et al., 2010; CROWDER et al., 2012; BORTHAKUR et al., 2015).

---

<sup>1</sup> PAIVA, J.P. Comunicação pessoal, Seropédica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2018.

## 1.5 Acompanhamento Clínico da Doença

### 1.5.1 Radiografia de tórax

A radiografia torácica é o exame de eleição para avaliação do parênquima pulmonar e da silhueta cardíaca (CARLISLE, 1988; THRALL, 2013). As alterações radiográficas do parênquima pulmonar são frequentes em cães portadores de dirofilariose (Figura 6), variando de gravidade (CARLISLE, 1988; BENDAS, 2018), embora cães infectados possam apresentar radiografias sem alterações (THRALL, 2013).

As alterações pulmonares mais comumente observadas ao exame radiográfico de casos de dirofilariose canina são: 1) proeminência da artéria tronco pulmonar (THRALL et al., 1980; BENDAS, 2018); 2) aumento das artérias pulmonares lobares caudais (LIU et al., 1969; ATWELL; CARLISLE, 1982; BUORO et al., 1983; BENDAS, 2018); e 3) alterações pulmonares alveolares e intersticiais (densificação difusa e reticular do interstício pulmonar e marcação micronodular) (Figura 5) (CARLISLE, 1980; CARLISLE, 1988; BENDAS, 2018). As lesões pulmonares podem cursar com a formação nodular granulomatosa, podendo ser identificados ao exame radiográfico, como diagnóstico diferencial de processos neoplásicos e metastáticos (CARLISLE, 1988; MCCALL et al., 2008; BENDAS, 2018).

Após o tratamento adulticida recomendado, alguns achados radiográficos são esperados uma vez que a morte de grande número de vermes adultos simultaneamente repercute nos pulmões (CARLISLE, 1988; KRAMER et al., 2008; NELSON et al., 2016). Um aumento notável na densidade do parênquima pulmonar ocorre após o tratamento recomendado, devido a uma resposta granulomatosa à morte dos vermes adultos, mais frequente nos lobos caudais direitos (ATWELL; CARLISLE, 1982).

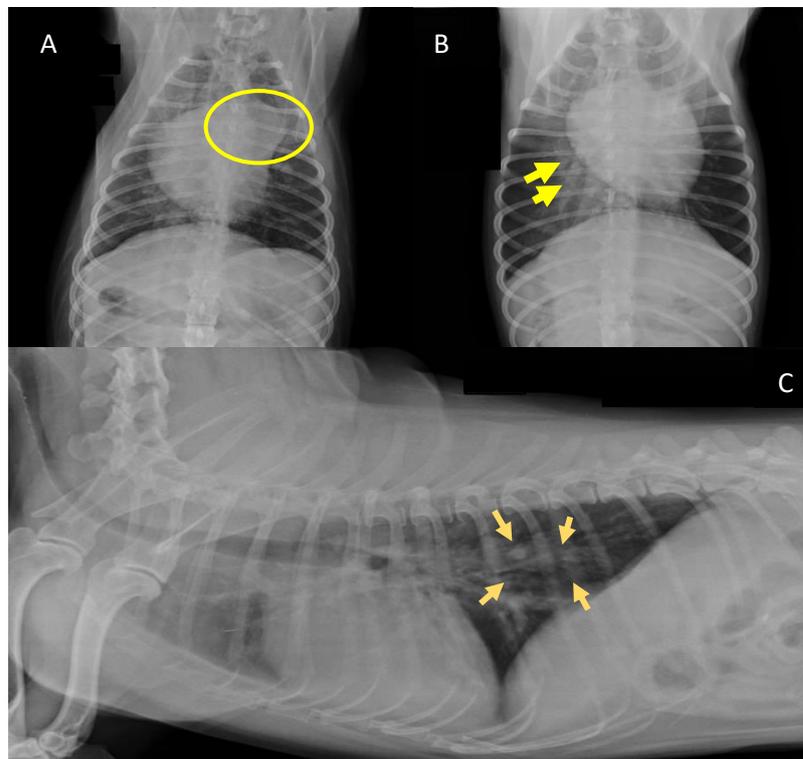


Figura 6. A. Imagem radiográfica de tórax de cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*, na posição ventrodorsal evidenciando aumento de tronco pulmonar (círculo); B. Imagem radiográfica de tórax na posição ventrodorsal (setas), evidenciando aumento do calibre da artéria e veia pulmonar caudal; C. radiográfica de tórax evidenciando padrão alveolar e intersticial (setas). Fonte:

### 1.5.2 Ecodopplercardiograma

O ecodopplercardiograma é um exame que permite a avaliação morfofuncional do coração. Nos portadores de dirofilariose é especialmente importante para avaliação da função cardíaca permitindo estimar: 1) a localização dos parasitos; 2) o grau de hipertensão pulmonar; e 3) o prognóstico do comprometimento cardíaco (CALVERT et al., 1999; MADRON, 2016a).

O modo bidimensional permite a identificação de parasitos adultos no interior das câmaras cardíacas direitas e no interior da artéria tronco pulmonar e seus ramos mais proximais. Quando visualizados, apresentam-se como pontos hiperecóicos (corte transversal) ou linhas paralelas hiperecóicas (corte longitudinal), medindo cerca de 1,3mm de diâmetro (Figura 7) (LOSONSKY et al., 1988; VENCO et al., 2003). Além disso, outras medidas podem ser utilizadas para determinar a presença de sobrecarga cardíaca, tais como a dilatação do ramo principal da artéria pulmonar; a hipertrofia ventricular e a retificação do septo interventricular (KELLIHAN; STEPIEN, 2010; SERRANO-PARREÑO et al., 2017).



Figura 7. Imagem ecocardiográfica em modo bidimensional, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecóicas, em corte longitudinal medindo 1,3mm de diâmetro, imagem compatível com presença do parasito *Dirofilaria immitis*. Fonte: LUIGI VENCO, 2018.

Diversas técnicas ecocardiográficas vêm sendo utilizadas para avaliação da função ventricular direita e da hipertensão pulmonar em cães (VENCO et al., 2014; VISSER et al., 2015; SERRANO-PARREÑO et al., 2017). Dentre as principais podem-se citar: 1) avaliação da regurgitação tricúspide; 2) avaliação da insuficiência pulmonar; 3) índice de desempenho miocárdico (índice de TEI); 4) Doppler tecidual do pico sistólico do anel tricúspide (S'); 5) variação fracional da área ou "fractional area change" (FAC); 6) excursão sistólica do plano anular tricuspídeo ou "tricuspid annular plane systolic excursion" (TAPSE); e 7) índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) (VENCO et al., 2014; ALSOOS; KHADDAM, 2015; SERRANO-PARREÑO et al., 2017).

A avaliação da regurgitação tricúspide em conjunto com a avaliação da insuficiência pulmonar permite estimar o valor da pressão arterial pulmonar (PAP) de maneira não invasiva (CHETBOUL, 2016). Quando essas avaliações não forem possíveis, o índice de distensibilidade da artéria pulmonar permite avaliação da HAP, uma vez que seu valor é reduzido quando os valores da PAP estão acima dos valores de referência (VENCO et al., 2014; VISSER et al., 2016; SERRANO-PARREÑO et al., 2017).

A função sistólica do ventrículo direito é avaliada por meio dos índices: TEI; variação fracional da área do ventrículo (FAC); excursão sistólica do plano anular tricúspideo (TAPSE); e S' (MORITA et al., 2019). O índice de TEI permite a avaliação global da performance miocárdica ventricular (NAKAMURA et al., 2016), contudo a variação da frequência cardíaca dificulta sua aplicação (MORITA et al., 2016). Assim, como a variação da frequência cardíaca de cães é um achado frequente mesmo em cães hípidos (TILLEY, 1985), sua utilização é limitada.

A FAC permite avaliar mudanças no ventrículo direito que comprometam a sua função na sístole. Contudo a dificuldade em se obter imagens ecocardiográficas com a borda endocárdica bem definida tanto em sístole quanto em diástole dificulta sua execução em alguns pacientes (VISSER et al., 2015; GENTILE-SOLOMON; ABBOTT, 2016). A TAPSE permite avaliar o deslocamento do anel fibroso do aparato valvar tricúspide, sendo uma técnica de fácil execução para avaliação da função sistólica, no entanto o valor de referência varia de acordo com o peso do animal (MADRON, 2016b). O Doppler tecidual do pico sistólico do anel tricúspide (S') assim como a TAPSE, permite avaliar a função sistólica de maneira simples e fácil e permite a quantificação da função diastólica por meio da determinação do pico de velocidade das ondas E' se A' (JURCUT et al., 2010) apesar dos valores de referência dessas medidas ainda não estarem estabelecidas para cães (MADRON, 2016b).

A avaliação ecocardiográfica deve ser feita de maneira global e a interpretação do exame deve ser realizada pelo conjunto de todos os achados, uma vez que a função miocárdica não pode ser determinada por uma única medida de forma isolada (MORCERF, 1996; BOON, 2011).

## 1.6 Profilaxia

Há dois grupos de lactonas macrocíclicas registrados internacionalmente para utilização em cães; as avermectinas (ivermectina e selamectina) e as milbemicinas (milbemicina oxima e moxidectina) (REINEMEYER; COURTNEY, 2003). As moléculas dos dois grupos são produtos da fermentação de bactérias do gênero *Streptomyces* e apresentam a estrutura principal formada por 16 elementos com um grupamento éster e subestruturas como uma subunidade espirocetal e um anel benzofurânico (REINEMEYER; COURTNEY, 2003; PRICHARD et al., 2012).

As lactonas macrocíclicas atuam bloqueando os neurotransmissores e, conseqüentemente, interferem nas sinapses neuromusculares. O mecanismo de ação de todas elas é semelhante; ligam-se aos canais de cloro-glutamato abrindo-os de forma irreversível e assim causando paralisia flácida dos helmintos (REINEMEYER; COURTNEY, 2003; GEARY; MORENO, 2012). O efeito dessa paralisia impede o desenvolvimento dos estádios pré-larvares, comprometendo a eficácia reprodutiva dos helmintos e pode inviabilizar sua sobrevivência (LOK, 1988; REINEMEYER; COURTNEY, 2003; GEARY; MORENO, 2012). Além da ação prejudicial direta sobre os helmintos essas moléculas inibem a secreção de proteínas imunomoduladoras pelas microfilárias, permitindo que o sistema imune do hospedeiro agrida os parasitos mais facilmente (GEARY; MORENO, 2012).

Nos hospedeiros definitivos, as lactonas macrocíclicas não atravessam imediatamente a barreira hematoencefálica, apresentando uma ampla margem de segurança na maioria dos mamíferos. Apesar disso, superdosagens podem levar a efeitos tóxicos no sistema nervoso central (REINEMEYER; COURTNEY, 2003). Cães de raças dolicocefálicas como Collies ou Pastores australianos parecem ser mais sensíveis aos efeitos tóxicos dessa classe de medicamentos do que os braquicefálicos, entre outros. Uma das razões para essa maior

sensibilidade é a mutação do gene MDR1 que favorece a passagem das lactonas macrocíclicas pela barreira hematoencefálica (PULLIAM, 1985; REINEMEYER; COURTNEY, 2003).

Todas as moléculas desse grupo registradas para uso em cães (ivermectina, selamectina, milbemicina oxima e moxidectina) são quimioprofiláticos lipofílicos eficazes e seguros que se encontram comercialmente disponíveis em várias apresentações (BOWMAN; MANNELLA, 1996; NOVOTNY et al., 2000; MCCALL, 2005; PRICHARD et al., 2012). A moxidectina é dentre as quatro moléculas aquela mais lipofílica, fazendo com que suas concentrações plasmáticas se mantenham altas por mais tempo (SANGSTER, 1999; REINEMEYER; COURTNEY, 2003; AL-AZZAM et al., 2007; BLAGBURN et al., 2011).

### **1.7 Tratamento da Infecção Canina por *Dirofilaria immitis***

A Sociedade Norte-americana para Dirofilariose (“American Heartworm Society”), recomenda que o tratamento da dirofilariose canina seja multimodal. O objetivo principal do tratamento é a melhora da condição clínica do paciente associada à eliminação de todos os estádios do parasito, assim como a prevenção de reinfeções (LABARTHE et al., 2002; AHS, 2018).

O fármaco de efeito adulticida recomendado (hidrocloridrato de melarsomina) não é registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil e, portanto, não é comercializado no País, obrigando à utilização de estratégias terapêuticas alternativas (BENDAS et al., 2017). Além disso, a morte em massa dos parasitos, causadas pelo uso deste adulticida, ocorre aumentando o risco de tromboembolismo pulmonar, e uma maior resposta inflamatória pulmonar que pode causar quadros de dispneia intensa (RAWLINGS, 1986; ATWELL, 1988; BOWMAN; ATKINS, 2009; AHS, 2018).

É sabido que a ivermectina apresenta efeito adulticida quando administrada por, pelo menos, 16 meses (MCCALL et al., 1998). Entretanto, àquela época o efeito microfilaricida foi observado em três meses, e em outro estudo alguns cães se mantiveram microfilarêmicos por mais tempo (MCCALL, et al., 2001). Qualquer tratamento que realize uso mensal contínuo de lactonas macrocíclicas em monoterapia é contraindicado (AHS, 2018) sob a alegação de ser um tratamento longo que permite a progressão das lesões e complicações da doença. Além disso, especialistas temem que favoreça a seleção de linhagens de *D. immitis* resistentes à única classe de moléculas eficaz na prevenção das infecções (GEARY et al., 2011; BOWMAN, 2012). Contudo, diferentes registros evidenciaram que a associação da doxiciclina com lactonas macrocíclicas, além de diminuir as complicações pulmonares reduz o tempo necessário para a eliminação da infecção quando comparada ao uso de lactonas macrocíclicas sem associação (NELSON et al., 2017; SAVADELIS et al., 2017; BENDAS, 2018; SAVADELIS, MOLLY et al., 2018).

Sabe-se que a associação de doxiciclina com moxidectina 2,5% e imidacloprida 10%, foi capaz de eliminar a infecção natural de 95,9% dos animais aos 12 meses de tratamento e os demais com, no máximo, 36 meses de tratamento, não havendo piora detectável da função cardiopulmonar (BENDAS, 2018). Além disso, em animais experimentalmente infectados e submetidos à eutanásia e necropsia, os resultados dessa associação terapêutica não foram diferentes (SAVADELIS et al., 2017).

#### **1.7.1 Doxiciclina**

A doxiciclina é um antibiótico do grupo das tetraciclina, de efeito bacteriostático de amplo espectro, que atua em bactérias aeróbias ou anaeróbias, gram-negativas ou gram-positivas (PAPICH, 2017). É mais lipofílica (de cinco a 10 vezes) que outras tetraciclina,

resultando em maior penetração tecidual, maior volume de distribuição e propriedades antimicrobianas melhores. É excretada pelas fezes como conjugado ou quelato inativo, impactando a flora microbiana intestinal de forma pouco significativa. Sua capacidade de ligação com proteínas plasmáticas é maior do que a das outras tetraciclinas, fazendo com que sua meia vida plasmática seja mais prolongada (RIVIERE et al., 2003).

A doxiciclina tem sido amplamente usada no tratamento da dirofilariose desde a descoberta da interação simbiótica das bactérias do gênero *Wolbachia* com os filarídeos (NELSON et al., 2005; NELSON et al., 2017; AHS, 2018). Essa medicação reduz a carga bacteriana em todos os estádios do parasito, sendo letal para as larvas L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub>. Ela também bloqueia a transmissão vertical das bactérias, o que suprime gradativamente a parasitemia (RAO et al., 2002; MCCALL et al., 2008; MCCALL et al., 2014).

Quando usada por pouco tempo ou em dose insuficiente, o desenvolvimento do verme e sua fertilidade não são afetados, sendo observada uma redução inicial das bactérias seguida por rápida recolonização (TAYLOR; HOERAUF, 1999; CASIRAGHI et al., 2002; PAIVA, 2009; BOURGUINAT et al., 2011).

A minociclina tem sido considerada como alternativa à doxiciclina no protocolo terapêutico de cães com dirofilariose nos Estados Unidos da América, uma vez que lá não há formulações veterinárias de doxiciclina e o custo das formulações humanas é alto (PAPICH, 2017). Apesar de a minociclina apresentar resultados promissores, um estudo comparando a eficácia na eliminação do DNA de *Wolbachia* sp. em cães naturalmente infectados e tratados com doxiciclina ou com minociclina observou que o melhor efeito foi obtido com doxiciclina na dose de 10mg/kg a cada 12h por 30 dias, além de provocar menos efeitos colaterais (SAVADELIS et al., 2018).

Os principais efeitos colaterais do uso da doxiciclina são alterações gastrointestinais que se apresentam como vômito, diarreia, perda de peso e inapetência (RIVIERE et al., 2003; PAPICH, 2017; SVADELIS et al., 2018). Esses sinais são resultantes da irritação do estômago e do intestino delgado superior, onde a doxiciclina é absorvida após a administração oral. A intoxicação do fígado quando presente, ocorre devido ao acúmulo do fármaco, caso não seja eliminado rapidamente pelos rins ou por administração de doses terapêuticas acima da recomendada (RIVIERE et al., 2003).

Já é sabido que a presença de *Wolbachia* sp. influencia de maneira significativa na fisiopatogenia da doença pulmonar (CASIRAGHI et al., 2002; GUERREO, 2005; GRANDI et al., 2007; KRAMER et al., 2008; AHS, 2018). As lesões pulmonares de cães experimentalmente infectados que receberam doxiciclina foram menos importantes do que as lesões daqueles que não receberam a droga (Figura 8), evidenciando não apenas o papel dessas bactérias na fisiopatogenia da doença, mas também que o uso da doxiciclina é fundamental para evitar complicações pulmonares e clínicas em animais portadores da doença (KRAMER et al., 2008).

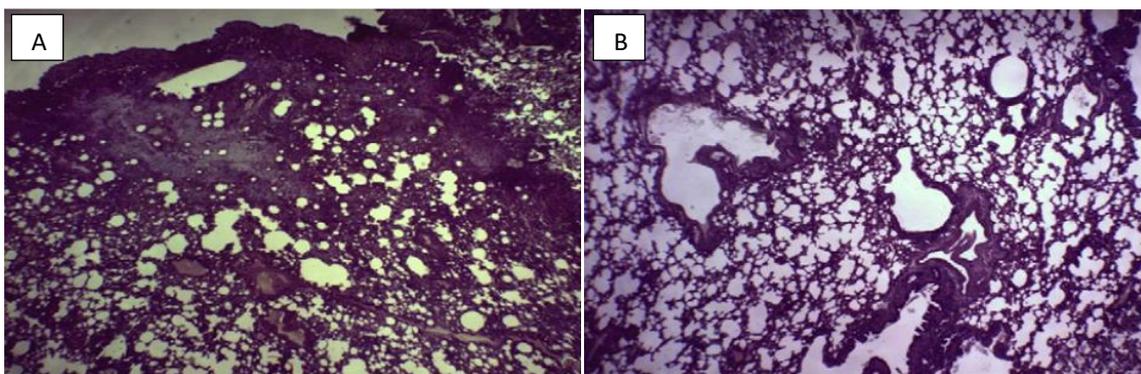


Figura 8. (A) Pulmão de um cão infectado experimentalmente com *Dirofilaria immitis* tratado com melarsomina + lactona macrocíclica. (B) Pulmão de um cão infectado experimentalmente com *Dirofilaria immitis* que recebeu doxiciclina no protocolo de tratamento (hematoxilina e eosina, 40X). Fonte: Kramer et al. (2008)

### 1.7.2 Lactonas macrocíclicas

Esses quimioprofiláticos apresentam ação contra larvas de terceiro (L3) ou quarto estádios (L4), embora sua utilização contínua possa apresentar ação adulticida (Nelson et al., 2016). Quando a ivermectina foi administrada mensalmente durante um ano, a partir de quatro meses após a infecção experimental com larvas infectantes de *D. immitis*, apresentou efeito deletério sobre os adultos jovens (MCCALL et al., 1996). O efeito adulticida da ivermectina foi maior à medida em que foi administrada por mais tempo; com 16 meses eliminou 56,3% dos vermes adulto e com 29 meses eliminou 94,9% (MCCALL et al., 1996; MCCALL et al., 2001). Já a milbemicina oxima não apresentou eficácia relevante contra parasitos adultos mesmo após 16 meses de administração mensal (MCCALL et al., 1996; MCCALL et al., 2001; GRANT et al., 2018)

Em um estudo com a administração mensal de selamectina em cães microfilarêmicos, foi observada a redução do número de microfírias em 90% após a terceira dose, chegando a 100% após a sexta dose. Já sobre os adultos a redução foi de apenas 36,4% após 18 meses (DZIMIANSKI et al., 2001).

A formulação tópica de moxidectina associada à imidacloprida é capaz de suprimir a microfilaremia após duas aplicações mensais a cães experimentalmente infectados (MCCALL et al., 2014; BOWMAN et al., 2015). Sabe-se que a associação de doxiciclina (10mg/kg/bid) com moxidectina 2,5% e imidacloprida 10%, é capaz de eliminar a infecção natural de 95,9% dos animais aos 12 meses de tratamento e os demais com, no máximo, 36 meses de tratamento, não havendo piora detectável da função cardiopulmonar (BENDAS, 2018).

A moxidectina injetável de liberação lenta apresenta duas formulações: i) ProHeart 6® (0,17mg/kg – 3,4mg de moxidectina/mL) e ii) ProHeart – SR12® (0,5mg/kg – 10mg de moxidectina/mL) e ambas já tiveram seu efeito microfilaricida comprovado (BOWMAN et al., 2017; MCTIER et al., 2017). Contudo estudos sobre seu efeito adulticida são escassos. Uma aplicação da formulação de moxidectina (3,4mg/mL) de liberação lenta na dose de 0,17 mg/kg a animais experimentalmente infectados eliminou 85,9% dos helmintos jovens enquanto a eficácia sobre parasitos adultos com mais de seis meses foi inexpressiva (<25%) (MCCALL et al., 2001)

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Considerações Éticas

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/IV/UFRRJ) sob o número 3341050617 (ANEXO A).

### 2.2 Localização do Estudo

Os exames clínicos, laboratoriais, ultrassonográficos, ecodopplercardiográficos e radiográficos foram realizados no Instituto de Especialidades em Medicina Veterinária (IEMEV), localizado na Rua Dezenove de fevereiro, 65 Botafogo – Rio de Janeiro.

### 2.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B) pelos responsáveis, cães portadores de infecção natural por *D. immitis* foram incluídos no estudo. No momento da inclusão uma ficha de identificação individual dos cães foi preenchida (ANEXO C).

Critérios de inclusão dos animais:

- a. Idade entre um e 10 anos;
- b. Portadores de antigenemia de *Dirofilaria immitis*;
- c. Plaquetometria acima de  $150 \times 10^3/\mu\text{L}$ ;
- d. Não tivessem recebido tratamento com lactonas macrocíclicas ou doxiciclina nos seis meses que antecederam à inclusão;
- e. Não tivessem doença grave concomitante;
- f. Não apresentassem alterações dignas de nota ao exame clínico
- g. Não apresentassem alterações dignas de nota ao exame ultrassonográfico;
- h. Não fossem das raças Collie, Pastor de Shetland ou Pastor Australiano.

Foram excluídos animais que:

- a. recebessem medicamentos contendo qualquer lactona macrocíclica ou doxiciclina fora da prescrição do projeto;
- b. se apresentassem em qualquer estágio de gestação;
- c. desenvolvessem sensibilidade a qualquer componente do tratamento;
- d. cujos responsáveis desistissem de participar.

### 2.4 Delineamento Experimental

Cães com diagnóstico prévio de infecção por *D. immitis* eram encaminhados para avaliação com vistas à inclusão no estudo. Quando os responsáveis pelos animais concordavam com os procedimentos a serem realizados durante o trabalho e assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os animais eram submetidos a exames para confirmação da infecção e para avaliação das condições clínicas.

Os animais que tiveram a infecção confirmada pela detecção de antígenos foram submetidos a exames clínicos e laboratoriais para verificar se atendiam aos critérios de inclusão no protocolo para o tratamento adulticida proposto (Figura 9). Os exames pré inclusão consistiam em: exame físico, hemograma, bioquímica sérica (ureia, creatina, fosfatase alcalina, ALT), ultrassonografia abdominal, radiografias torácicas e ecodopplercardiograma. Aqueles que atendiam aos critérios de inclusão passaram a receber o tratamento e acompanhamento até obterem dois resultados negativos na pesquisa de antígenos de *D. immitis* consecutivos, com intervalo de 180 dias (AHS, 2018).

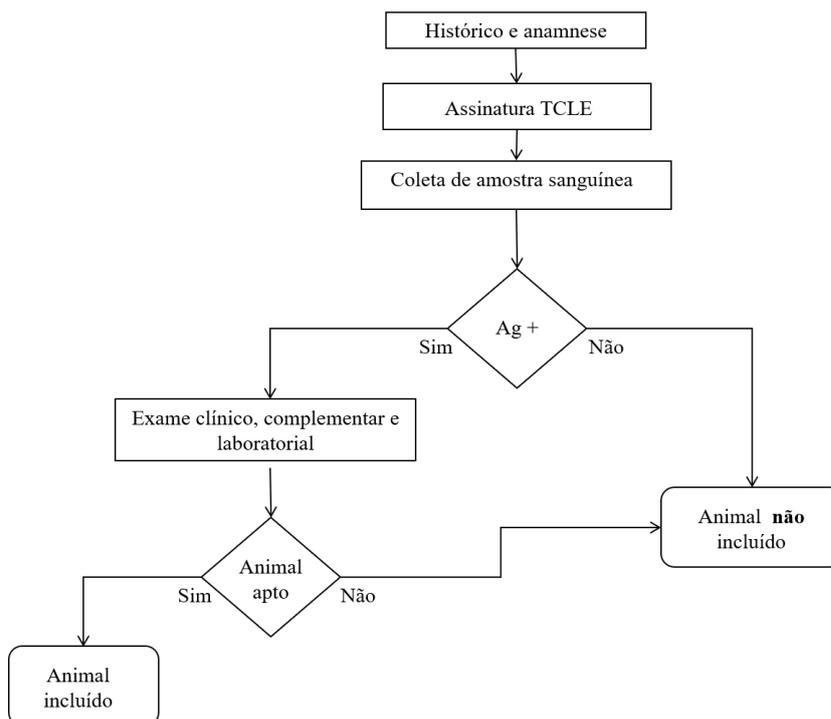


Figura 9. Diagrama dos procedimentos para inclusão de cães portadores de *Dirofilaria immitis* no estudo.

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido; Ag+: pesquisa de antígeno positiva. Animal apto: animais que se enquadravam nos critérios de inclusão

## 2.5 Tratamento

O tratamento foi realizado pela administração de moxidectina de liberação lenta<sup>2</sup> (0,5mg/kg) por via subcutânea sempre pelo mesmo médico veterinário associada à administração de ciclos de 30 dias de doxiciclina<sup>3</sup> (10mg/kg/BID) por via oral, a cada seis meses (+/-5 dias). O tratamento foi mantido por 12 meses.

No dia 0, os animais tinham uma amostra de sangue coletada para avaliação da parasitemia (pesquisa de microfilárias pelo teste de Knott modificado e contagem) e da antigenemia (pesquisa de antígenos por ELISA comercial) e logo em seguida foram pesados e receberam uma dose de moxidectina de liberação lenta por via subcutânea, na região cervical,

<sup>2</sup> ProHeart®SR-12, Zoetis, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>3</sup> Doxifin®, Ourofino Saúde Animal Rio de Janeiro, Brasil

cranial à escápula. No mesmo dia comprimidos à base de doxiciclina foram entregues para que os responsáveis administrassem por via oral, durante 30 dias juntamente com a recomendação para que os animais fossem mantidos em repouso relativo, evitando-se exercícios intensos.

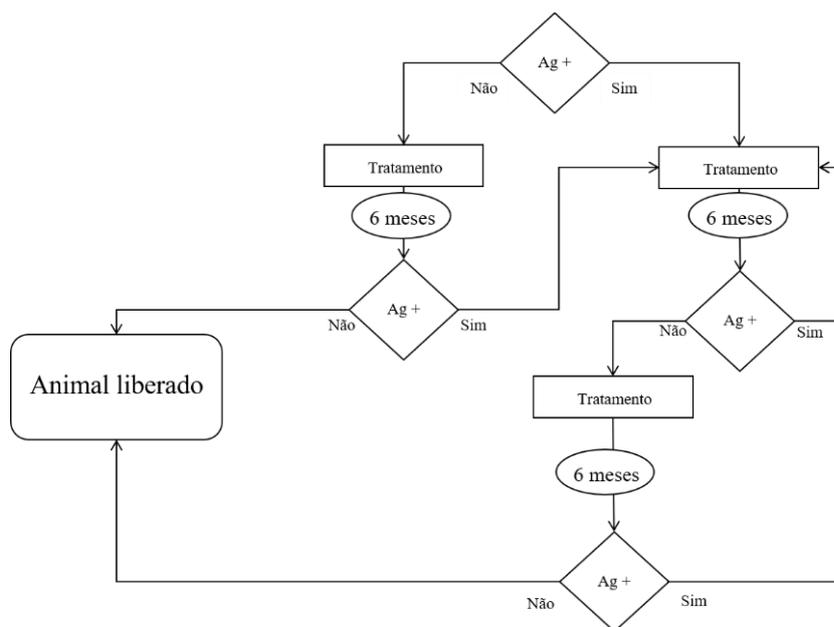
## 2.6 Avaliação da Segurança do Tratamento

Amostras de sangue eram coletadas, identificadas e encaminhadas ao laboratório de análises clínicas do IEMEV, onde foram realizadas determinações da concentração sérica de ureia, creatinina, fosfatase alcalina e alanina aminotransferase (ALT), nos dias +180 e +240 (+/-5 dias) e hemograma nos dias 0, +180, +240 e +360 (+/-5 dias).

Além disso todos os animais tinham os pesos aferidos na mesma balança digital (BRASMED®), sempre previamente tarada antes de cada pesagem.

## 2.7 Avaliação da Eficácia do Tratamento

Para verificar a eficácia do tratamento instituído foram realizados: avaliação parasitológica; exame físico; avaliação pulmonar; e avaliação cardíaca (Figura 10).



**Figura 10.** Diagrama de acompanhamento do tratamento dos cães infectado por *Dirofilaria immitis*, incluídos no estudo até o seu momento de liberação.

Ag+: pesquisa de antígeno positiva.

### 2.7.1 Avaliação parasitológica

A parasitemia foi avaliada pela contagem de microfílaras conforme descrito por Paiva (2009) nos dias 0, +30 e +150 (+/-5). Para isso, duas lâminas de cada amostra de sangue total com anticoagulante foram confeccionadas. Cada lâmina recebia 20µL de sangue e 5 µL de água destilada. O material foi espalhado e homogeneizado em área de 15x25mm sobre a lâmina. As lâminas eram secas em temperatura ambiente por 12h e então fixadas pelo calor

em estufa<sup>4</sup> (120°C por 20 min) e coradas pelo método de Giemsa. Então as microfilárias eram contadas em microscópio óptico (aumento de 100x), sempre pelos mesmos dois operadores, independentemente, e de forma cega (figura 11). O resultado era obtido pela média aritmética das quatro leituras das duas lâminas de cada amostra. A concentração de microfilárias era ajustada para 1mL multiplicando-se o resultado final de cada amostra por 50.

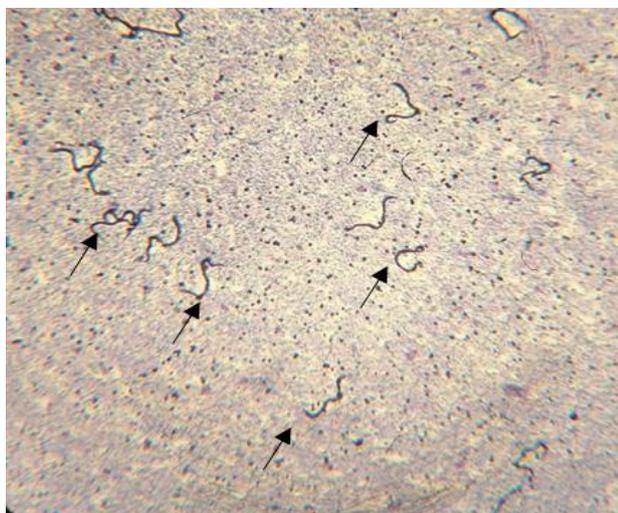


Figura 11. Técnica de contagem de microfilárias para diagnóstico de *Dirofilaria immitis*. Esfregaço de sangue corado pela técnica de Giemsa para identificação microscópica de microfilárias (setas) em lâminas de esfregaço sanguíneo para contagem de microfilárias corado pelo Giemsa (aumento 100x). Fonte: Arquivo pessoal.

Pesquisa de microfilárias nas amostras sanguíneas era realizada pela técnica de concentração de Knott (1939) modificado por Newton e Wrigth (1956) nos dias 0, 180, 360 (+/- 5 dias). Misturava-se 1mL de sangue com anticoagulante, com 9mL de solução formalina 2% e centrifugava-se a mistura durante cinco minutos a 500G rpm. Após a centrifugação, desprezava-se o sobrenadante, e alíquotas do precipitado eram colocadas entre lâmina e lamínula para avaliação por microscopia óptica com aumento entre 40 e 400 vezes. A confirmação da espécie era realizada por avaliação da morfologia das microfilárias segundo Newton e Wrigth (1956).

A pesquisa de antígenos de parasitos adultos de *D. immitis* era realizada com uma alíquota de soro, sempre pelo mesmo operador, utilizando o método de ELISA (*Enzyme Linked immuno Sorbent Assay*), pelo kit comercial SNAP 4Dx Plus<sup>®5</sup>, conforme recomendações do fabricante, nos dias 0, +180 e +360 (+/-5d).

O primeiro resultado negativo da pesquisa de antígenos foi considerado como marcador da eliminação dos parasitos adultos. Entretanto, os animais só foram considerados livres da infecção quando apresentassem dois resultados negativos com intervalo de seis meses.

<sup>4</sup> MedClave ST200 – Rio de Janeiro, Brasil

<sup>5</sup> SNAP 4Dx Plus<sup>®</sup>, Laboratório Idexx, Maine, EUA.

### 2.7.2 Exame físico

O exame físico dos animais foi realizado nos dias 0, +180, +240 e +360 (+/-5 dias). Inicialmente o animal permanecia livre no ambiente do consultório para ambientação. Durante esse período eram realizados o histórico e anamnese com seu tutor.

A seguir, realizava-se o exame físico, sempre pelo mesmo médico-veterinário, com o animal em estação, contido de forma manual por seu tutor. O exame físico era composto por aferição dos parâmetros vitais como: 1) aferição da frequência cardíaca por meio da palpação da artéria femoral em um dos membros pélvicos; 2) aferição da frequência respiratória por meio da observação dos movimentos respiratórios torácicos; 3) avaliação do tempo de preenchimento capilar na mucosa oral; 4) inspeção das mucosas por meio da observação da mucosa oral e conjuntival (FEITOSA, 2014).

Em seguida, era realizada ausculta cardíaca com auxílio de um estetoscópio começando pela região do choque de ponta do lado esquerdo, localizando o foco mitral, mais cranial e lateral à base cardíaca e do lado direito o foco tricúspide. A ausculta pulmonar era realizada por meio da varredura completa do tórax também com o auxílio do estetoscópio posicionado nos espaços intercostais (CAMACHO; MUCHA, 2014).

### 2.7.3 Avaliação pulmonar

A avaliação pulmonar foi realizada por meio do exame radiográfico de tórax, nos dias 0, +180 e +360 (+/-5 dias). Foi utilizado o aparelho emissor de Raio-X analógico da marca Siemens de 300mA<sup>6</sup> e a revelação feita a partir da técnica de radiologia computadorizada por meio de digitalizadora da marca FujiFilm FCR Prima<sup>7</sup>. Eram obtidas três imagens de cada animal: em decúbito ventrodorsal, laterolateral direito e esquerdo e. As imagens foram sempre avaliadas pelo mesmo operador, de forma cega.

Para a obtenção da imagem radiográfica, levou-se em consideração o cálculo do KV, utilizando-se a fórmula  $KV = (e. \times 2) + K$ , onde, e = espessura e K = constante. A espessura de cada paciente foi obtida por meio de um espessômetro e levou-se em consideração a constante com o valor de 35, como recomendando pelo fabricante. Após a obtenção das imagens por meio do raio-x analógico, as mesas foram digitalizadas utilizando-se a digitalizadora das especificações acima descritas e cada imagem foi processada por meio de um software FCR PRIMA® V CONSOL – versão 2.05.0000.

Foram avaliados por meio das radiografias de cada paciente o calibre das artérias pulmonares caudais, a artéria tronco pulmonar, os campos pulmonares e a silhueta cardíaca.

A avaliação do calibre das artérias pulmonares lobares caudais foi realizada por meio da avaliação da projeção ventrodorsal, na qual o diâmetro dos vasos foi comparado com o diâmetro da porção média da nona costela (Figura 12) (THRALL, 2013). Quando presente, o aumento da artéria pulmonar lobar caudal foi classificado como discreto (aumento era inferior a 20% do diâmetro da nona costela); aumento moderado (entre 20 e 50% do diâmetro da nona costela) e grave (acima de 50% do diâmetro da nona costela) (BENDAS, 2018).

---

<sup>6</sup> Siemens, Berlim, Alemanha.

<sup>7</sup> Fuji Film FCR Prima, Tokyo, Japão.

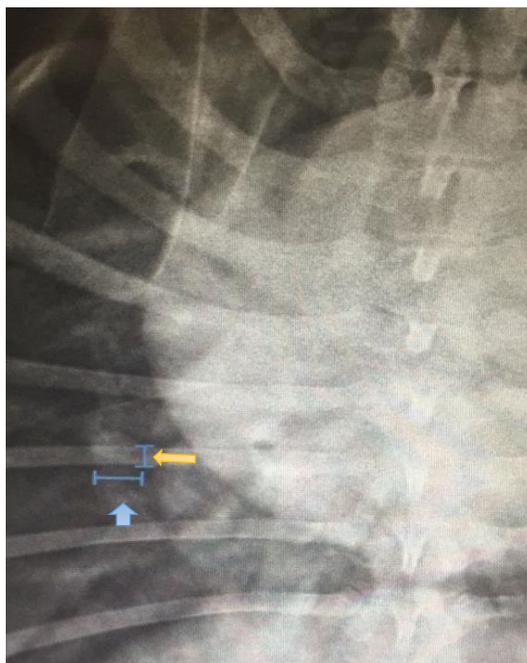


Figura 12. Imagem radiográfica de tórax de um cão, na posição ventrodorsal, evidenciando aumento do calibre da artéria pulmonar caudal (seta azul), quando comparada com o diâmetro da nona costela (seta amarela). Fonte: Ana Carolina Mota (IEMEV).

A artéria tronco pulmonar também era avaliada na posição ventrodorsal. Quando era observado aumento de densidade em topografia de tronco pulmonar, sem visualização de seu contorno, o aumento do mesmo era considerado de grau discreto. Quando observado alguma alteração na silhueta cardíaca nesta mesma topografia sem ultrapassar em 50% o comprimento da costela sobreposta, o aumento era considerado moderado e caso a alteração fosse maior que 50% o aumento era considerado grave (BENDAS, 2018).

Para determinar o padrão pulmonar em micronodular ou densificação difusa e para classificar as alterações quando presentes, eram consideradas as alterações observadas nas projeções laterais (esquerda e direita, dividindo-se a imagem radiográfica em quatro quadrantes (Figura 13). As alterações foram classificadas como: 1) discretas, quando presentes em apenas nos lobos pulmonares caudais dorsais; 2) moderadas, se ocupavam até dois quadrantes; e 3) graves, quando três ou quatro eram acometidos (BENDAS, 2018)

A determinação da presença de parasitos no interior da artéria pulmonar foi realizada durante o exame ecodopplercardiográfico e condicionada à presença de linhas paralelas hiperecóticas (corte longitudinal), medindo cerca de 1,3mm de diâmetro (Figura 14).



Figura 13. Imagem radiográfica de cão na posição lateral direita, com divisão em quadrantes. Fonte: Ana Carolina Mota (IEMEV-RJ).

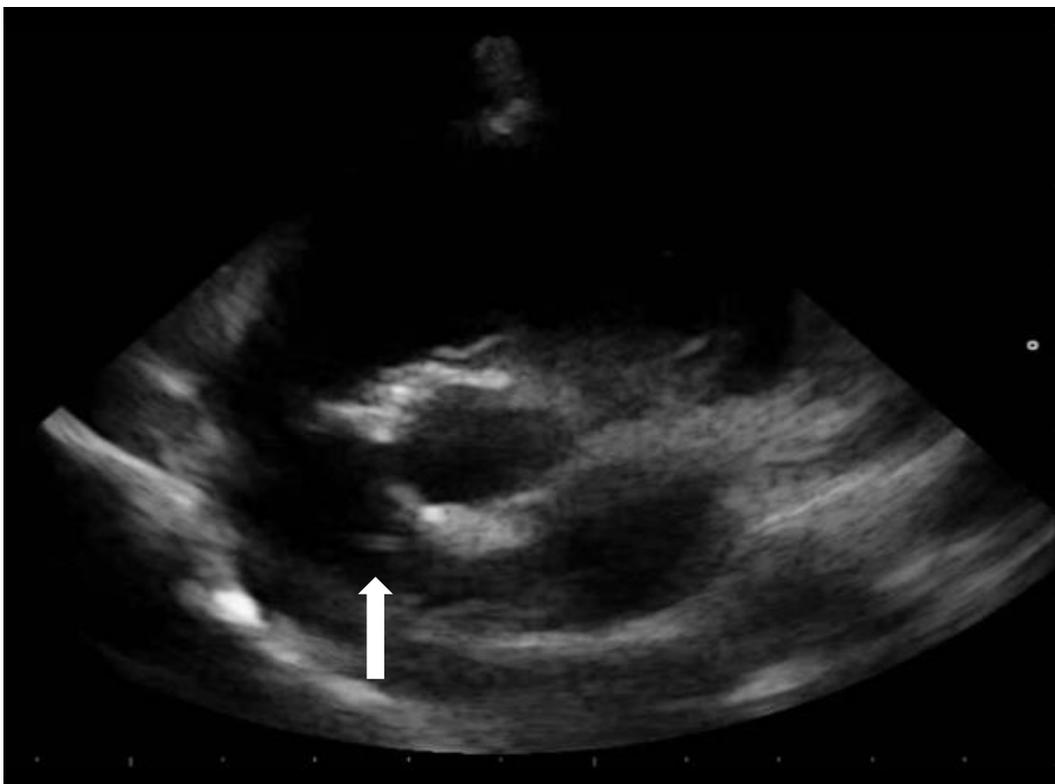


Figura 14. Imagem ecocardiográfica corte transverso da base, realizado a partir da janela paraesternal longitudinal modificado evidenciado presença de linhas paralelas hiperecoicas (seta branca), medindo cerca de 1,3mm de diâmetro no ramo direito da artéria pulmonar. Fonte: Arquivo pessoal

#### 2.7.4 Avaliação cardíaca

Radiografias torácicas foram utilizadas para avaliação da silhueta cardíaca, e o ecodopplercardiograma para avaliação da função ventricular (sistólica e diastólica) e avaliação da pressão arterial pulmonar nos dias 0, +180 e +360 (+/-5 dias).

O aumento das câmaras cardíacas direitas era avaliado por meio do exame radiográfico como descrito por Kealy (2012) e Thrall (2013). O aumento era considerado discreto caso houvesse somente aumento atrial, nos casos em que havia aumento atrioventricular direito, o aumento era considerado moderado e nos casos em que havia aumento de câmaras direitas com imagem de “D” invertido considerava-se o aumento grave (BENDAS, 2018)

O exame ecodopplercardiográfico foi executado sempre pelo mesmo médico-veterinário, conforme preconizado pela “*Echocardiography Committee of the Specialty of cardiology – American College of Veterinary Internal Medicine*” com modificações sugeridas por Boon (2011) e Madron (2016b) .

Para realização do exame ecodopplercardiográfico foi utilizado o aparelho da marca Esaote MyLab 30 Vet Gold<sup>®8</sup> com transdutores setoriais multifrequenciais (1 a 4MHz ou 4 a 11MHz). O animal era submetido à tricotomia bilateral na região torácica e em seguida posicionado em decúbito lateral, contido pelo tutor, sem utilização de qualquer fármaco sedativo. Após posicionado era aplicado gel condutor para transmissão do feixe de ultrassom e realização do exame, sendo o transdutor posicionado nas janelas sonográficas estabelecidas por Madron (2016b).

A avaliação da função ventricular esquerda foi realizada com a finalidade de garantir a ausência de alterações que pudessem repercutir na função do ventrículo direito (VD). Para isso foi realizada a avaliação no modo bidimensional da morfologia e função das valvas atrioventriculares e semilunares. O estudo Doppler foi realizado na avaliação da função diastólica. A avaliação da função sistólica foi realizada no modo unidimensional (modo-M) pelo método de Teicholz.

A avaliação da função ventricular direita foi realizada por meio de diferentes técnicas, com objetivo de avaliar o comprometimento que a infecção causasse ao coração. Para avaliação da função sistólica foram realizadas: Variação fracional da área (FAC) do ventrículo direito; excursão sistólica do plano anular tricuspídeo ou “*tricuspide annular plane systolic excursion*” (TAPSE) e a mensuração da velocidade da onda S. Para avaliação da função diastólica foi realizada a avaliação do transtricuspídeo e do Doppler tecidual do ventrículo direito. Para avaliar a pressão pulmonar foram consideradas as medidas de: Gradiente de pressão do fluxo turbulento da regurgitação da valva tricúspide e do índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP).

Para avaliação da variação fracional da área (FAC) do ventrículo direito (VD), realizada no corte apical quatro câmaras, foi mensurada a área diastólica máxima do ventrículo direito (AVDD), obtida pelo modo bidimensional, fazendo-se o tracejado da região endocárdica do VD, desde o anel valvar ao longo da parede livre até o ápice, e depois de volta ao anel valvar ao longo do septo interventricular (Figura 15a) repetia-se mensurando a área do ventrículo direito na sístole (AVDS) e inseria-se o resultado na fórmula a seguir:  $FAC = ([AVDD - AVDS]/AVDD) \times 100$ . Os resultados obtidos foram analisados comparando a resposta ventricular à infecção no dia 0 e seu comportamento ao longo do tratamento, sendo classificada a resposta positiva quando os valores obtidos fossem superiores aos do dia 0, e como resposta negativa quando os valores fossem inferiores aos do dia 0.

---

<sup>8</sup> Esaote MyLab 30 VetGold, Genova Itália

Ainda nesse momento, durante a obtenção da imagem do corte apical quatro câmaras, foi realizada a excursão sistólica do plano anular tricuspídeo ou *tricuspid annular plane systolic excursion* (TAPSE) posicionando-se o cursor do modo-M sobre o anel tricúspide e mensurando a distância de seu movimento durante a sístole, em centímetros (Figura 15b). Foram considerados como normais valores acima de 1cm para cães de até 10kg; 1,5cm para cães entre 10 e 20kg e 1,5 a 2cm para cães entre 20 e 40kg (MADRON, 2016). Caso o valor estivesse até 20% menor do que o estipulado se considerou como disfunção sistólica ventricular direita de grau discreto, entre 20 e 50%, grau moderado e mais que 50%, grau importante.

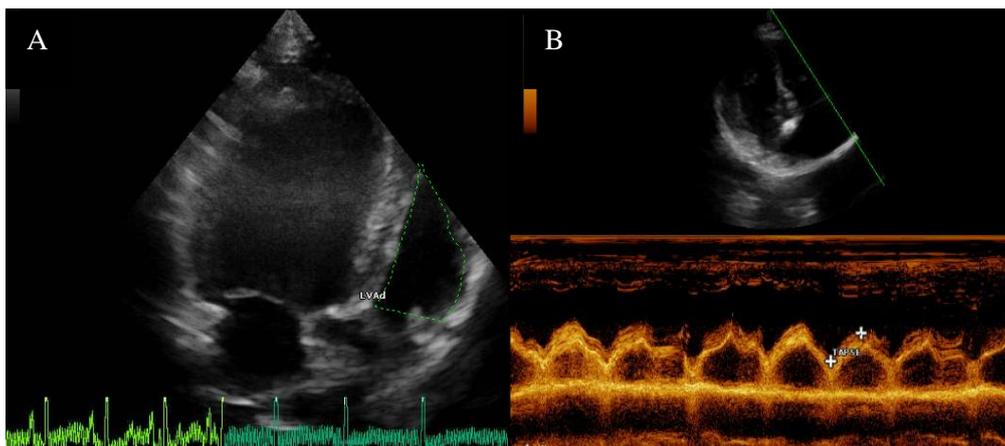


Figura 15. A - Imagem ecocardiográfica obtida pelo corte apical quatro câmaras modificado, evidenciando A- mensuração da alteração da área fracionária do ventrículo direito (tracejado verde); B - Imagem ecocardiográfica em modo-M para a determinação da excursão sistólica do plano anular tricuspídeo. Fonte: Arquivo Pessoal

Para avaliação do Doppler tecidual do ventrículo direito (TDI), utilizou-se o corte apical quatro câmaras posicionando-se a amostra sobre o músculo ventricular direito (parede livre) próximo ao aparato valvar tricúspide e analisou-se a onda S (parâmetro de função sistólica), sendo valores abaixo de 0,12m/s considerados diminuídos (CHETBOUL et al., 2005). Para avaliação da função diastólica do VD foram avaliados o fluxo transtricuspídeo (Figura 16a) e a relação entre as ondas E e A além da avaliação das ondas E' e A' por meio do Doppler tecidual (Figura 16b). A relação das ondas E/A no fluxo transtricuspídeo e das ondas E'/A' foram consideradas normal quando os valores estavam acima de 1,12 (MADRON, 2016). Caso a relação das ondas fosse até 20% menor que o valor de referência (1,12) a disfunção diastólica era classificada como de grau discreto, quando a relação estivesse entre 20 e 50% sendo classificada de grau moderado, e quando maior que 50%, disfunção grave (BENDAS, 2018). Valores de normalidade ainda não foram padronizados para cães, sendo assim os resultados foram comparados entre eles mesmos ao longo dos diferentes momentos de tratamento.

Para estimativa da pressão sistólica arterial pulmonar (PSAP), foi utilizado o Doppler colorido para avaliar se havia presença de insuficiência da valva tricúspide. Se presente, a avaliação por meio do Doppler contínuo era realizada para determinação da velocidade máxima do jato regurgitante e que era utilizada para estimar a PSAP por meio da equação de Bernoulli modificada: gradiente de pressão =  $4 \times (\text{pico de velocidade do fluxo regurgitante}^2)$  (Figura 17). Os valores eram considerados normais quando se encontravam abaixo de 30mmHg, e quando acima desse valor era considerada presença de hipertensão pulmonar. A hipertensão pulmonar com valores entre 30 e 50mmHg, era classificada de grau discreto.

Quando entre 51 e 75mmHg, como de grau moderado, e grave quando o valor da PSAP estava acima de 76mmHg (MADRON, 2016b).

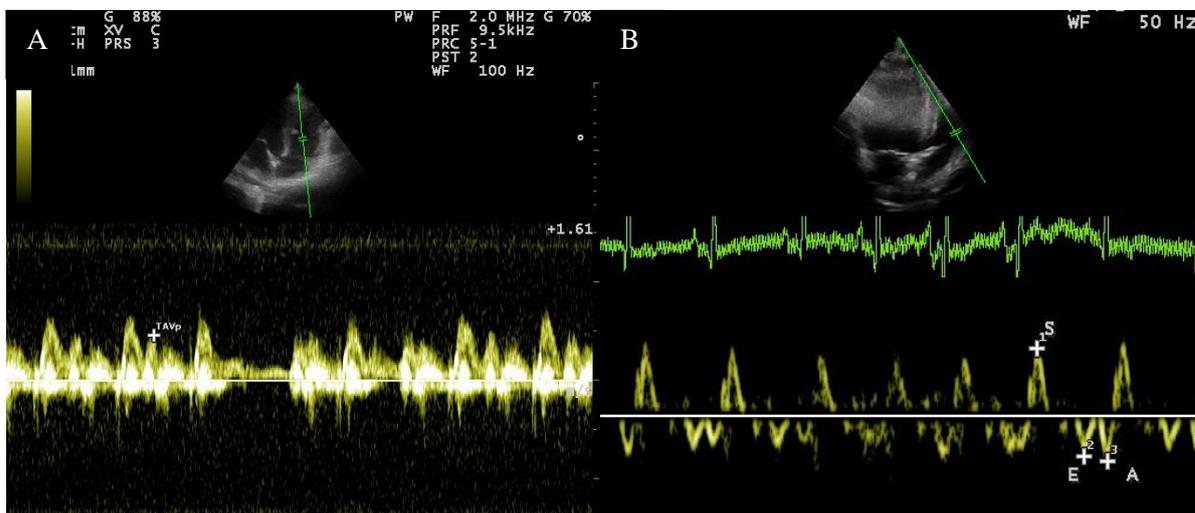


Figura 16. A) Imagem ecodopplercardiográfica do fluxo transtricuspidio e B) Imagem ecodopplercardiográfica da análise com Doppler tecidual pulsado para avaliação da função ventricular direita. S: velocidade de excursão sistólica do miocárdio, E: pico de velocidade diastólica tardia. Fonte: Arquivo pessoal.

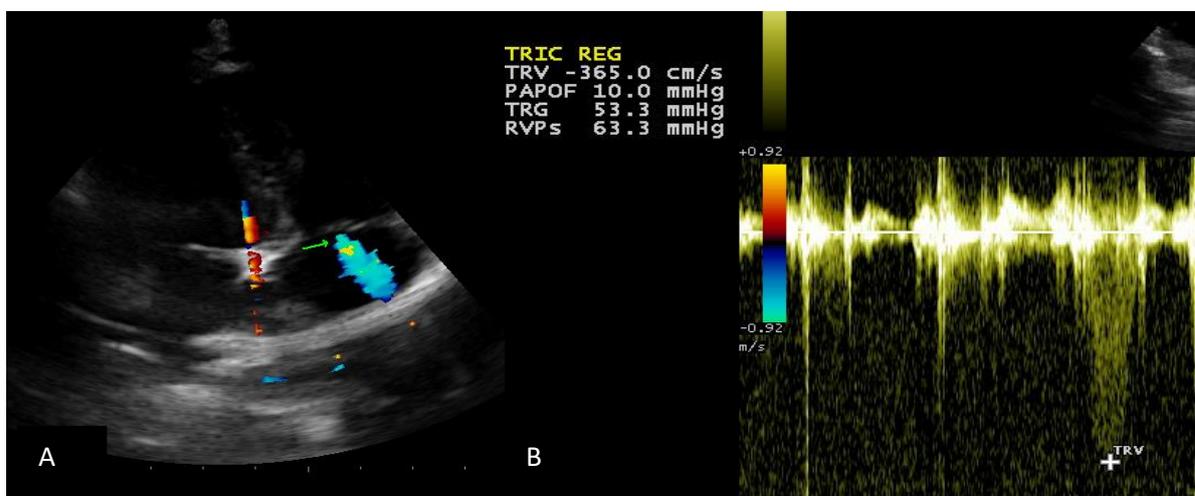


Figura 17. A. Imagem ecocardiográfica obtida pelo corte apical quatro câmaras, permitindo a identificação de insuficiência da valva tricúspide (seta verde); B- Imagem ecodopplercardiograma do estudo por meio do Doppler contínuo, evidenciado a pressão sistólica arte arterial pulmonar estimada (PSAP=63.3mmHg). Fonte: arquivo pessoal.

Utilizando-se do corte paraesternal longitudinal modificado, foi possível observar os ramos direito e esquerdo da artéria tronco pulmonar, sendo nesse momento avaliados se havia presença de parasitos em seu interior e também era realizada a determinação do índice de distensibilidade da artéria a pulmonar no modo-M.

Para avaliação do índice de distensibilidade da artéria pulmonar foram obtidas imagens no modo-M e mensurando o diâmetro do ramo direito da artéria pulmonar na sístole

(DAPS) e o diâmetro da artéria pulmonar na diástole (DAPD) e os resultados aplicados na equação:  $IDAP = ([DAPS - DAPD]/DAPS) \times 100$  (Figura 18).

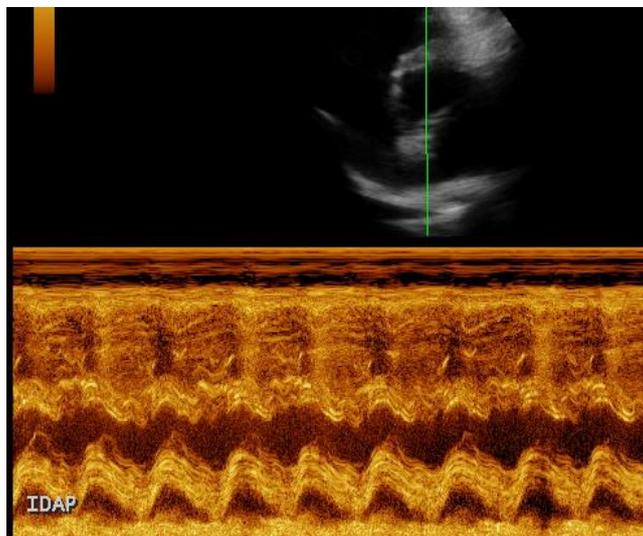


Figura 18. Índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) para no modo-M Para avaliação da pressão da artéria pulmonar. Fonte: arquivo pessoal

Os valores do IDAP abaixo de 35% foram considerados indicativos de hipertensão pulmonar; entre 35% e 28% compatível com hipertensão pulmonar moderada; e quando entre 27% a 23% hipertensão pulmonar grave (VENCO et al., 2014) .

## 2.8 Análise dos Dados

Foram elaboradas planilhas em programa Microsoft Excel<sup>®</sup> com os dados de histórico e anamnese, exames laboratoriais, ecodopplercardiograma e de radiografias de tórax. Uma incluindo os resultados de todos os animais no dia 0 e aos +360 dias; e outra incluindo os resultados de todos os animais no dia 0 e no dia da liberação do estudo, independentemente do tempo entre o início do tratamento e a liberação.

A fim de se avaliar as variações entre os dias de tratamento nos diferentes momentos com relação as variáveis quantitativas idade, peso, valores de Microfilaremia e frequências cardíacas e respiratórias foram realizadas comparações por meio da ANOVA com desdobramento por Tukey.

Foi realizada transformação logarítmica no número de microfilárias em função da alta variação nos dados e posteriormente as médias antes e após o tratamento foram comparadas por meio do teste t de student e elaborado um gráfico Box Splot para plotagem dos valores referentes às médias e respectivos desvios-padrão destes momentos.

Com o objetivo de verificar se o tratamento provocou alteração nos pesos no decorrer do tratamento, também foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson entre os pesos nos dias de tratamento e um gráfico de dispersão foi elaborado entre os pesos no início e no final do tratamento.

Para as variáveis hematológicas, bioquímicas, alterações radiográficas e pulmonares pelo fato dos seus valores terem sido apresentados em escores, foi aplicado o teste não

paramétrico de Friedman a fim de se verificar possíveis diferenças estatísticas significativas entre os rankings (valores) nos diferentes momentos do tratamento. Para todos os testes foi considerado 5% de significância e utilizado o programa SPSS®IBM – versão 18.0

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Animais

Foram incluídos 19 animais que atenderam os critérios de inclusão e iniciaram o protocolo de tratamento. Entretanto, dois deles foram excluídos; uma exclusão se deu por tratamento com doxiciclina fora da prescrição do estudo e outra por gestação. Assim, todas as avaliações apresentadas foram realizadas com 17 cães.

Dentre os 17 animais, a distribuição por sexo foi semelhante, sendo nove fêmeas 53% (9/17) e oito machos 47% (8/17). A maior parte dos animais era castrada 64,7% (11/17), entre as fêmeas cinco eram castradas 55,5% (5/9) e entre os machos seis, 75% (6/8).

A maioria dos animais não tinha raça definida (11/17) e dentre os seis com raça definida havia: Miniatura Pinscher (1); Dachshund pelo curto (1); Terrier Brasileiro (1); Dálmata (1) e Labrador Retriever (2). Apesar dos critérios de inclusão definirem a faixa de idade em 1 a 10 anos, no dia 0 a idade dos animais apresentava variação entre um e oito anos ( $\bar{x} = 4,9 \pm 2,0$ ; c.v=42,15%).

#### 3.2 Avaliação da Segurança do Tratamento

As variáveis hematológicas se mantiveram estáveis ao longo do estudo e dentro dos valores de referência para a espécie. Vale salientar que a plaquetometria (Fr= 0.1059; p= 0.9911) (Figura 19a) e os valores das contagens de eosinófilos (Fr=4.2882; p= 0.232) (Figura 19b), mais susceptíveis a variações no curso de infecções por *D. immitis* ou durante seu tratamento também não variaram. Além disso, os resultados das provas bioquímicas para avaliação hepática e renal também não variaram no decorrer do tratamento: ureia (Fr=0.1412; p=0.9865); creatinina (Fr= 0.1059; p= 0.9911); ALT (Fr= 1.2353; p= 0.7446) e; fosfatase alcalina (Fr= 0.1059; p=0.9911).

Os resultados dos exames de sangue e da pesagem dos animais sugeriram que o tratamento instituído não ocasionou efeitos adversos. E ressalta-se que nenhum animal apresentou efeitos gastrointestinais como vômitos, que poderiam ser causados pela administração da doxiciclina.

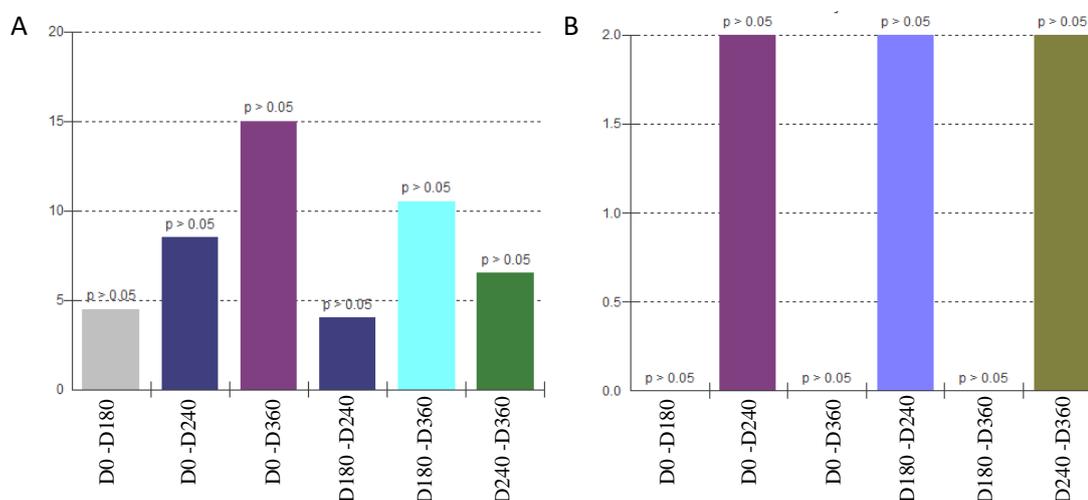


Figura 19. Comparação entre as médias dos valores de eosinófilos (A) e plaquetas (B) ao longo dos tratamentos, pelo teste de Friedman. D=dia

No dia 0, os cães pesavam entre 5,2kg e 49kg ( $\bar{x} = 18,6 \pm 10,9$ ; c.v=57,1%) e no dia +180 a média de peso se manteve semelhante ( $\bar{x} = 19,3 \pm 11$ ; c.v=56,9%) ( $t=1,63$ ;  $p=0,1208$ ). Já no dia +360 a média dos pesos ( $\bar{x} = 19,6 \pm 11,1$ ; c.v=57%) foi superior à do dia 0 ( $t=2,19$ ;  $p=0,0432$ ). A correlação entre os pesos foi altamente positiva e significativa (1) demonstrando que os animais mais pesados no dia 0 também foram os mais pesados no dia +180 (Figura 20). A diferença entre o peso no dia 0 e no dia +360 foi positiva em 12 animais (70,6%), negativa em três animais (17,6%) e não variou em dois animais (11,8%)

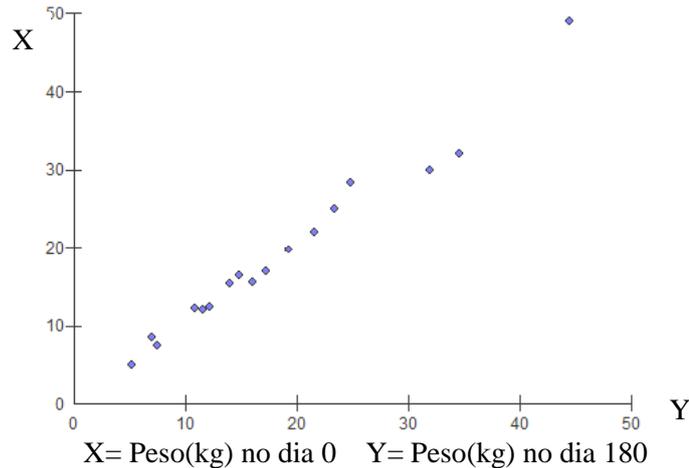


Figura 20. Dispersão do peso corporal de cães naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis* submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina no dia 0 e ao final do tratamento.

### 3.3 Avaliação da Eficácia do Tratamento

#### 3.3.1 Avaliação parasitológica

No dia 0, a maioria (88,2%) dos animais era microfilarêmico (15/17) e a média da concentração de microfírias era 20.503 mf/mL. Após 30 dias, o tratamento reduziu a média da concentração para 7.671 mf/mL e no dia +150 todos os animais apresentavam-se amicrofilarêmicos. Utilizando-se transformação logarítmica dos valores de microfíremia observou-se que houve redução entre os dias 0 e +30. A média no dia 0 foi 3,33 mf/mL ( $\bar{x} = 3,33 \pm 1,5$ ; c.v=171,31%) e no dia 30 foi 2,9 mf/mL ( $\bar{x} = 2,9 \pm 1,6$ ; c.v=133,64%) ( $t=3,54$ ;  $p=0,003$ ) (Figura 21).

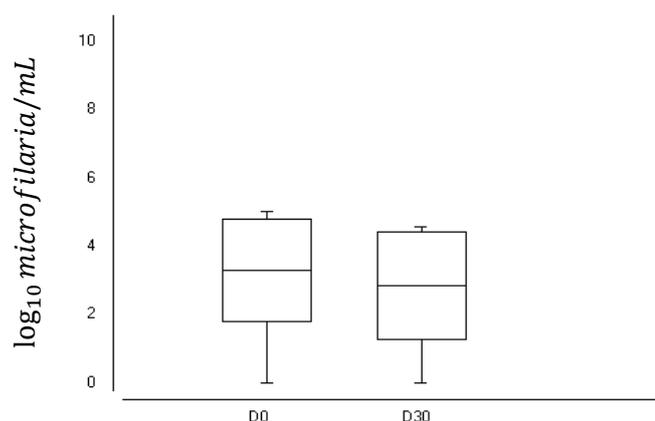


Figura 21. Box Splot das médias, desvios-padrão, mínimo e máximo da concentração de microfílarías por em amostras sanguíneas de cães naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis* submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina coletadas nos dias 0 (D0) e +30 (D30).

No dia +180, 58,8% não apresentava antigenemia (10/17) e no dia +360 de tratamento outros cinco animais soroconverteram 29,4% (5/17). Todos os 10 cães que deixaram de apresentar antígenos no dia +180 foram considerados livres da infecção aos 12 meses de tratamento uma vez que a soroconversão foi mantida. Apenas dois cães, apesar de terem se tornado amicrofilarêmicos no dia +150, não soroconverteram a negativos até o dia +360 de tratamento.

### 3.3.2 Avaliação pulmonar

No dia 0 apenas sete cães apresentavam tosse (41,2%) e destes, dois animais continuaram a apresentar tosse durante todo o período de tratamento (28,6% - 2/7). Cabe ressaltar que em um deles ocorreu a soroconversão no dia +360 e que o outro não soroconverteu. Nenhum dos outros animais (15/17) apresentava tosse no dia 360.

Dispneia foi um achado pouco frequente durante todo o período do estudo, tanto assim que, no dia 0, 18% (3/17) dos cães apresentavam-na e dentre eles um ainda apresentava dispneia no dia em que soroconverteu (dia 360). Nenhum dos outros animais (16/17) apresentava dispneia no dia 360. Cabe ressaltar que embora a dispneia tenha sido raramente diagnosticada, dois cães foram medicados com prednisona (1mg/kg/SID/ 7 dias) para controlar episódios de dispneia agudos.

Um animal que já se apresentava dispneico no dia 0 apresentou um episódio de agravamento no dia +65 dias após tratamento que foi controlado com a medicação instituída. Entretanto, o paciente permaneceu dispneico até o dia +360, quando soroconverteu. O outro cão, que não se apresentara dispneico no dia 0, apresentou episódio de dispneia súbita no dia +270 após o tratamento e respondeu satisfatoriamente à medicação instituída, mantendo-se eupneico até o dia +360, quando soro converteu.

No dia 0 a maioria dos animais apresentava ruído expiratório aumentado 82,3% (14/17), no dia +180 apenas três cães deixaram de apresentar a alteração e dois que não apresentavam passaram a apresentar. No dia +360 o número de animais com ausculta

pulmonar normal passou a 9 52,9% (9/17), sendo que dentre aqueles que apresentavam ruído expiratório aumentado apenas 1 não apresentava a alteração no dia 0.

Não houve diferença nas médias das frequências respiratórias nos dias 0 ( $\bar{x}$  =32; p= 0,2457), +180 ( $\bar{x}$  =34; p=0,3628) e +360 ( $\bar{x}$  =33; p= 0,4974).

No dia 0 só foi possível visualizar helmintos na artéria pulmonar (figura 22) em 41,2% dos animais (7/17). No dia +180, em 17,6% dos animais (3/17) a visualização ainda era possível e no dia +360 em apenas 1 animal (5,9%) ainda havia parasitos visíveis. Interessante ressaltar que este animal que não deixou de apresentar parasitos visíveis, soroconverteu no dia +360.

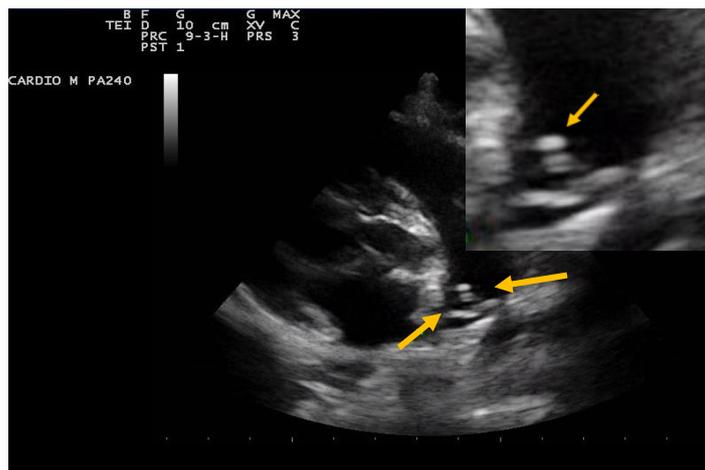


Figura 22. Imagem ecocardiográfica em modo bidimensional, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecóticas, no interior da artéria pulmonar, em corte longitudinal, indicativo de presença de parasitos de *Dirofilaria immitis*, em cão naturalmente infectado antes de receber o tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

No dia 0, todos os animais apresentavam pelo menos uma alteração pulmonar ao exame radiográfico. A alteração mais frequente foi densificação difusa, observada em todos (Figura 24). O aumento das artérias pulmonares caudais e o aumento do tronco pulmonar (Figura 23) foram observados com igual frequência 47,1% (8/17), e a marcação micronodular (Figura 24) foi observada com a menor frequência 29% (5/17) (Tabela 1).

Tabela 1. Número de animais segundo avaliações pulmonares ao longo do tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina, de acordo com o grau das alterações.

Avaliações	Dia 0				Dia +180				Dia +360			
	N	D	M	G	N	D	M	G	N	D	M	G
Art Pulm Caudais	9	6	2	0	8	8	1	0	13	4	0	0
Tronco Pulmonar	9	7	1	0	11	5	0	1	14	2	0	1
Densificação difusa	0	10	6	1	0	10	7	0	1	10	6	0
Marc.micronodular	12	5	0	0	12	5	0	0	12	5	0	0

N= normal ou ausente; D=discreto; M=moderado; G=grave; Art= Artéria; Pulm= Pulmonar; Marc=Marcação

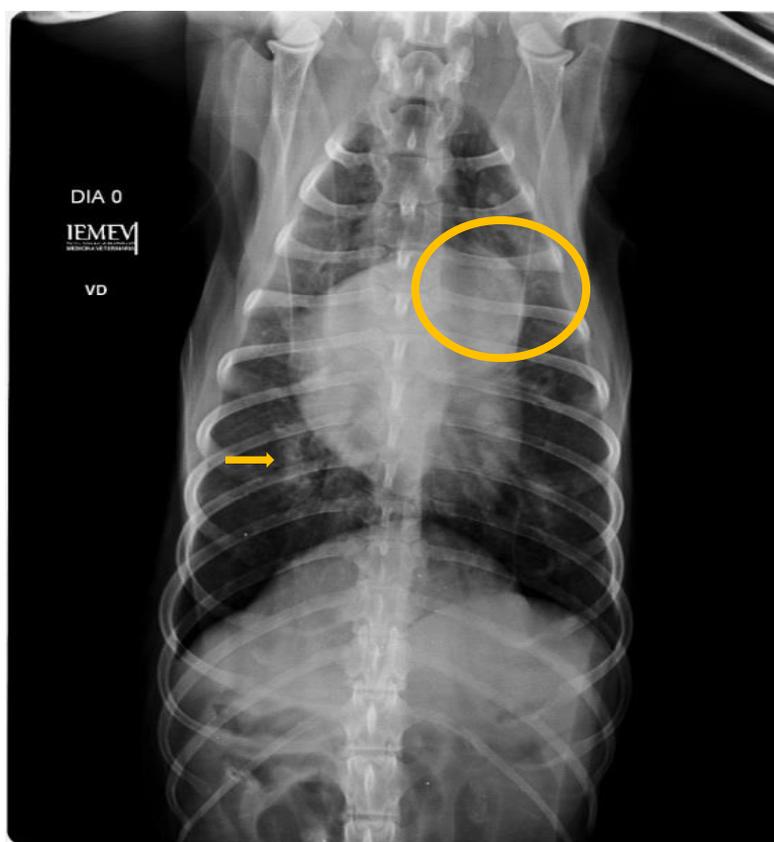


Figura 23. Imagem radiográfica de tórax, na projeção ventrodorsal (VD) evidenciando aumento de artéria pulmonar caudal (seta amarela) e aumento moderado de tronco pulmonar (círculo amarelo) em cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*, antes do tratamento (Dia 0). Fonte Arquivo Pessoal.

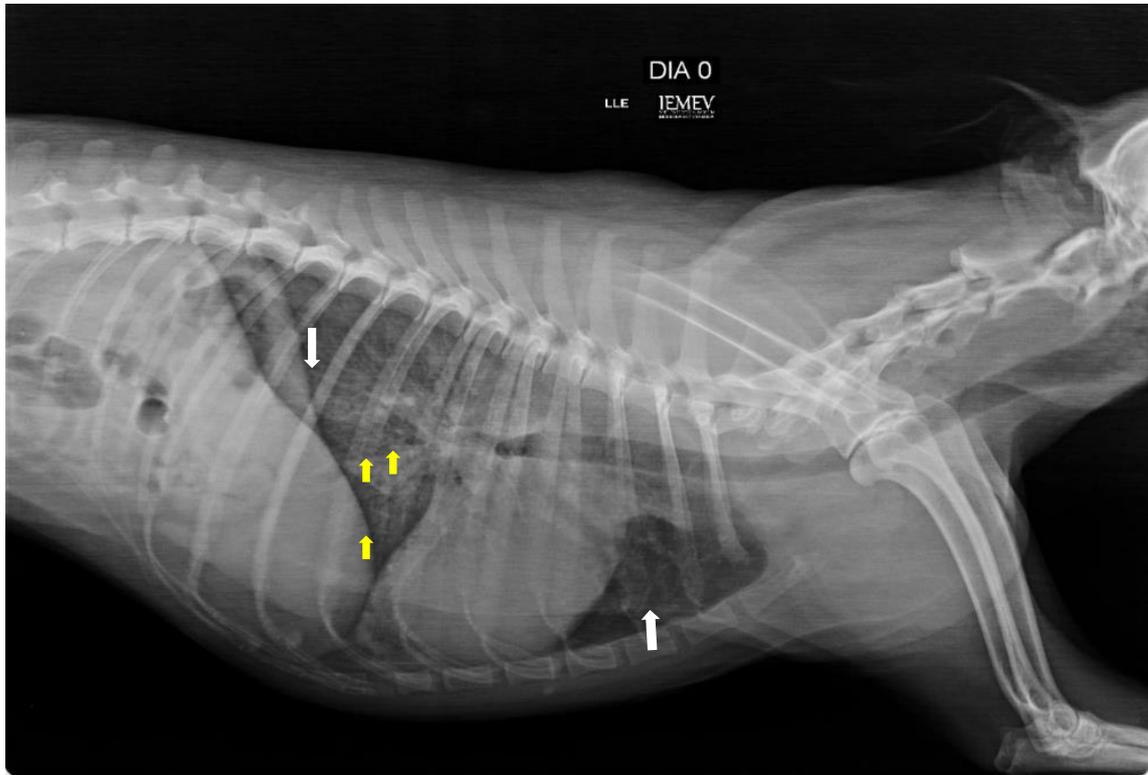


Figura 24. Imagem radiográfica de tórax na projeção latero-lateral esquerda, evidenciado discreto padrão micronodular (seta amarela) e grave densificação difusa do parênquima pulmonar (seta branca) em cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*, antes do tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

No dia +180, a densificação difusa continuava a ser observada em todos os animais, o aumento das artérias pulmonares caudais passou a ser observado em mais um animal, passando a ser observado em nove (53%) e o aumento do tronco pulmonar deixou de ser observado em três embora um animal que antes não apresenta-se a lesão tenha passado a apresentá-la 35,3% (6/17). A marcação micronodular deixou de ser observada em dois embora outros dois animais tenham passado a apresentá-la 29% (5/17) (Tabela 1).

No dia +360, a densificação difusa foi observada em 16 animais (94,1%), o aumento das artérias pulmonares caudais passou a ser observado em 4 animais que apresentavam a alteração desde o dia 0 (23,5%) e o aumento do tronco pulmonar foi observado em três animais, sendo que um deles não apresentava a lesão no dia 0 embora apresentasse no dia 180 (17,6%) (Tabela 1).

A variação da classificação das alterações radiográficas pulmonares ao longo do tratamento foi sutil (tabela 2). A maioria dos cães não apresentou piora na avaliação pulmonar entre os dias 0 e 360 67,7% (11/17). Dois animais apresentaram piora na avaliação da densificação difusa, um animal tanto na densificação difusa quanto no calibre das artérias pulmonares caudais, dois animais passaram a apresentar marcação micronodular discreta. Dentre os 10 animais que foram considerados livres da infecção, apenas dois tiveram um parâmetro da avaliação pulmonar agravado no dia 360. Um animal que não apresentava aumento do tronco pulmonar passou a apresentá-lo em grau discreto e outro animal que apresentava densificação difusa de grau discreto passou a apresentá-la em grau moderado (Tabela 1).

**Tabela 2.** Comparação entre as classificações das alterações radiográficas pulmonares (ausente, discreta, moderada ou grave) observadas no dia 0 e no momento da soroconversão em cães submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina.

Alterações	Dia 0 X Soroconversão	
	Fr	P valor
Densificação difusa	0,2353	0,8084
Padrão micronodular	0,2353	0,8084
Aumento calibre do tronco pulmonar	0,0588	0,6276
Aumento calibre das artérias lobares caudais	0,0588	0,6276

Fr= teste de Friedman;

### 3.3.3 Avaliação cardíaca

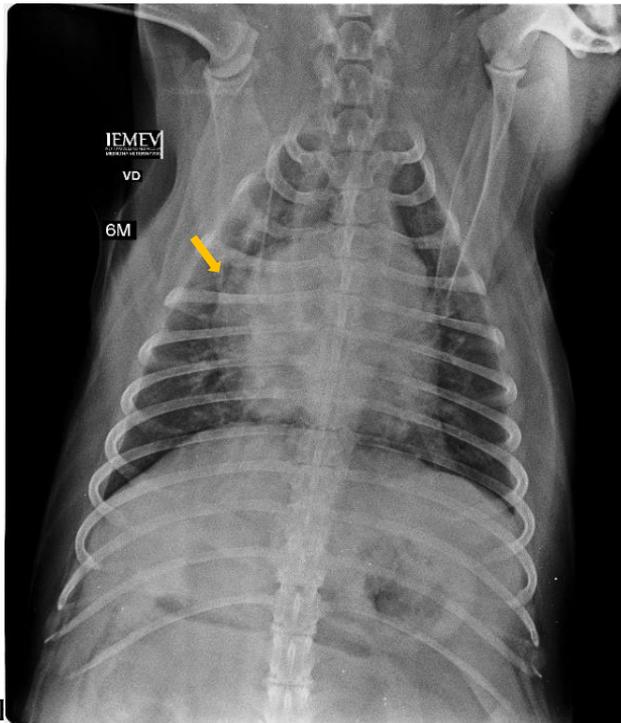
No dia 0, apenas três animais apresentavam sopro sistólico em foco tricúspide (17,6% - 3/17) e no dia que soroconverteram (dia +180) dois deixaram de apresentar o sopro. O animal que não deixou de apresentar o sopro, soroconverteu no dia +360.

Não houve diferença nas médias das frequências cardíacas nos dias 0 ( $\bar{x}$  =123; p= 0,9055), 180 ( $\bar{x}$  =123; p=0,3830 ) e 360 ( $\bar{x}$  =124; p= 0,8208), apesar de terem se mantido discretamente acima dos valores de referência para espécie.

A silhueta cardíaca de todos os animais apresentava-se aumentada no dia 0. O aumento atrioventricular direito (figura 25) apresentava-se discreto na maioria dos animais 70,6% (12/17) e moderado em 29,4% (5/17). No dia da soroconversão (dia +180) em apenas um animal foi observada a piora do remodelamento cardíaco passando de discreto a moderado. No dia +360 o cão que teve o remodelamento agravado no dia +180, permaneceu na mesma categoria (moderado). Outro cão apesar de ter soroconvertido no dia 180, só apresentou alteração na categoria no dia 360, passando de moderada para discreta.

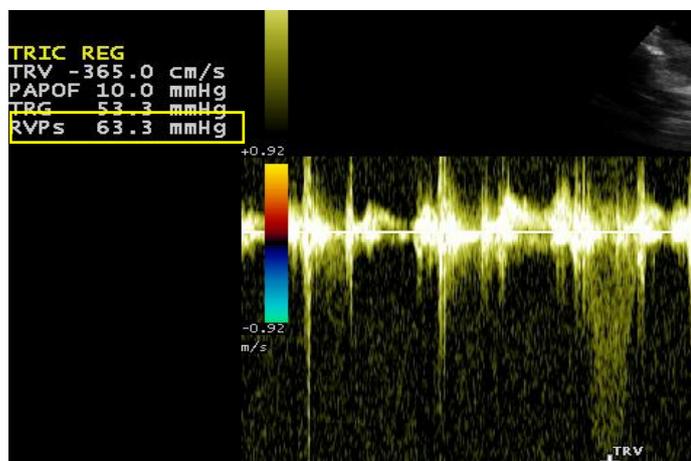
Na avaliação da função sistólica do ventrículo direito, as médias dos valores da excursão sistólica do plano anular tricúspide (TAPSE) nos dias 0 ( $\bar{x}$ =11mm), +180 ( $\bar{x}$ =12,5mm) e +360 ( $\bar{x}$ =11,2mm) foram semelhantes (Fr=0,3529; p=0,8382). Não houve diferença nos valores da variação fracional da área (FAC) do ventrículo direito entre os dias 0 ( $\bar{x}$  =57,8%), 180 ( $\bar{x}$  =62,7%), 360 ( $\bar{x}$  =59,9 %). Entre dia 0 e 180 (t=-1,3769; p=0,0937), entre dia 0 e 360 (t=-0,5833 ;p= 0,5678), entre dia 180 e 360 (t=0,8660 ;p= 0,3887). Os valores da onda S foram semelhantes nos dias 0 ( $\bar{x}$  = 0,22m/s) , dia 180 ( $\bar{x}$  = 0,20 m/s) e no dia 360 ( $\bar{x}$  = 0,20m/s). Entre dia 0 e 180 (t=0,6415; p=0,5303), entre dia 0 e 360 (t=0,9599; p= 0,3514), entre dia 180 e 360 (t=-0,1148; p= 0,9100).

Na avaliação da função diastólica do ventrículo direito, as médias dos valores da relação entre as ondas E e A (E/A) foram semelhantes, sendo 1,1 no dia 0; 1,2 no dia 180; e 1,3 no dia 360. Assim como foi observada semelhança na avaliação da relação entre as ondas Et/At, sendo 0,8 no dia 0; 0,9 no dia +180 e 1,0 no dia +360.



1 projeção ventrodorsal (VD) evidenciando aumento atrioventricular direito moderado (seta amarela), em cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis* aos 180 dias de tratamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

Na maioria dos animais a avaliação da pressão pulmonar pelo do índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) no dia 0 apresentava-se dentro dos valores de referência (76,5 % 13/17). Enquanto pela equação de Bernoulli modificada, não foi possível determinar a pressão pulmonar em 94,1% (16/17). As alterações determinadas foram: dois (11,8%) como discreto pela avaliação do IDAP; um como grave (5,9%) pelo IDAP; e um como discreto pelo IDAP e moderado pela equação de Bernoulli modificada (63mmHg) (Figura 26).



**Figura 26.** Imagem ecocardiográfica do estudo por meio do Doppler contínuo, evidenciado a pressão sistólica arterial pulmonar estimada (63.3mmHg). Fonte: Arquivo Pessoal

Quando as valvas tricúspide e pulmonar apresentavam-se insuficientes, a alteração já estava presente desde o dia 0. Apenas quatro animais apresentavam insuficiência da valva tricúspide no dia 0 (23,5%), sendo que um deles deixou de apresentar a insuficiência no dia +180 e outro no dia +360. No dia 0 a insuficiência da valva pulmonar foi observada em sete animais 41,2% (7/17); no dia +180 dois deles deixaram de apresentar a alteração 28,6 % (2/7) e; dois 40% (2/5) dos que tinham a insuficiência da valva pulmonar no dia 180 deixaram de apresentá-la no dia 360.

A variação das alterações ecocardiográficas entre o dia 0 e o dia da soroconversão foi sutil (Tabela 3). A silhueta cardíaca, TAPSE, IDAP e E/A não apresentaram diferença. No entanto o valor médio da FAC aumentou no dia da soroconversão e a média dos valores da onda S diminuíram (Tabela 3).

**Tabela 3.** Comparação entre os métodos de avaliação cardíaca realizados no dia 0 e no momento da soroconversão em cães submetidos ao tratamento com moxidectina de liberação lenta associada a doxiciclina comparados pelo teste de Friedman (Fr) e pelo teste t de student.

Métodos avaliação cardíaca		
	Fr (%)	p valor
TAPSE	0,2353	0,8084
IDAP	0,2353	0,8084
E/A	4,7647	0,4386
Et/At	0,0588	0,0029
Silhueta cardíaca	0,0588	0,6276
	T	p valor
FAC	-1,8669	0,0415
Onda S	1,9324	0,0369

TAPSE=da excursão sistólica do plano anular tricúspide; IDAP=Índice de distensibilidade da artéria pulmonar; E/A=fluxo transtricuspideo; Et/At=avaliação da função diastólica pelo Doppler tecidual.

A avaliação da função diastólica entre o dia 0 e o dia da soroconversão, mostrou que o fluxo transtricuspideo não variou (Fr=0,6; p=0.4386). Entretanto quando avaliada pelo Doppler tecidual, houve melhora (Fr= 4,7647; p=0,029) (tabela3).

#### 4. DISCUSSÃO

Dentre os 19 animais incluídos, aqueles que foram excluídos do estudo 10,5% (2/19), o foram em virtude de gestação ou uso de medicação indevida, portanto nenhum animal que recebeu o tratamento foi excluído por qualquer razão que pudesse ser atribuída ao tratamento.

Como a distribuição por sexo dos animais que permaneceram no estudo foi semelhante é possível inferir que, apesar da amostragem reduzida, machos e fêmeas tendem a se infectar em igual frequência, como já demonstrado anteriormente (LABARTHE et al., 2014).

Os exames de sangue realizados para avaliação da segurança do uso da moxidectina injetável de liberação lenta com maior frequência que a recomendação de bula não acarretou em alterações dignas de nota, mesmo quando a plaquetometria, contagem de eosinófilos, e dosagens séricas de ureia, creatinina, ALT e fosfatase alcalina foram avaliadas. A utilização do dobro da dose de bula anual não impactou na saúde de animais independente de idade, raça, sexo ou peso.

As contagens de eosinófilos e de plaquetas mantiveram-se inalteradas ao longo do estudo, contrariando o esperado (RAWLINGS, 1986; CALVERT et al., 1998; RIDYARD, 2005, TAKASHIMA et al., 2017), o que permite inferir que as propriedades imunomoduladora e de ação sobre células sanguíneas da doxiciclina (GLETTE et al., 1986; GABLER; CREAMER, 1991; GRIFFIN et al., 2010; GARRIDO-MESA et al., 2013) tenha contribuído para que esta estabilização ocorresse.

Ao longo do tratamento, os animais mais pesados permaneceram como os mais pesados do grupo e no dia +360, a média dos pesos foi superior à média do dia 0 assim como observado em estudo semelhante (BENDAS, 2018), sugerindo que a restrição ao exercício recomendada e a provável eliminação de parasitos gastrointestinais pela ação moxidectina (BLAGBURN et al., 1992; BOWMAN et al., 2003; AUSTIN et al., 2013; BIENHOFF et al., 2013) favoreceram o ganho de peso.

Como a eliminação da microfilaremia de todos os cães foi confirmada no dia +150, com redução significativa já no dia +30 ( $p=0,003$ ), é possível inferir que o tratamento com moxidectina de liberação lenta associado a doxiciclina impede que mosquitos ao realizarem repasto sanguíneo possam ingerir microfilárias viáveis, que pudessem se constituir em ameaça à eficácia profilática da classe lactona macrocíclica. Aparentemente a utilização da moxidectina de liberação lenta associada com doxiciclina foi mais eficaz na eliminação das microfilárias em até 150 dias, do que a aplicação tópica de imidacloprida 10%+moxidectina 2,5% associada à doxiciclina (BENDAS 2018). Sabe-se que os tratamentos somente com doxiciclina (10mg/kg/dia durante 21 dias) ou somente com imidacloprida 10%+moxidectina 2,5% tópica (2,5-6,2 mg/kg) em duas aplicações mensais foram capazes de reduzir a microfilaremia, mas não eliminá-la (BENDAS et al., 2008; BOWMAN et al., 2015).

Como o tratamento adulticida implica em cuidados intensivos, e que a eliminação dos vermes pode causar alterações graves e até mesmo o óbito (AHS, 2018), é imprescindível que as lesões provocadas pela morte dos parasitos sejam avaliadas em todas as etapas de um tratamento. Essa discussão chama a atenção para o tratamento proposto no trabalho, sendo uma alternativa interessante, uma vez que em nenhum dos animais tratados houve grave complicação ou morte, como em animais tratados com dicloridato de melasormina (RAWLINGS, 1986; ATWELL, 1988; ATKINS, 2009; AHS, 2018).

A soroconversão de 10 cães (58,8%) no dia +180 com a manutenção do status sorológico no dia +360 mostrou que o tratamento foi eficaz na eliminação dos parasitos adultos, uma vez que a soroconversão é exata em determinar a eliminação de parasitos adultos (SAVADELIS et al., 2017). Como a instituição de tratamento de infecções naturais à base de

imidacloprida 10% + moxidectina 2,5% tópica mensal associado a doxiciclina (10mg/kg/BID) promoveu a soroconversão de 53,6% dos animais no dia +180, de 28,6% no dia +360 e de 17,9% no dia 540 e todos tiveram o status sorológico confirmado 180 depois (Bendas, 2018), pode-se supor que os 5 cães (29,4%) que soroconverteram no dia 360 manterão o status com a continuação do tratamento e que os 2 (11,8%) que ainda não soroconveteram o farão à medida em que o tratamento progrida (dia 540) e que também eliminarão os parasitos adultos.

O efeito do tratamento sobre a tosse merece destaque uma vez que uma parcela significativa dos animais (41,2%) apresentava tosse no dia 0, tornando evidente o impacto da infecção no leito vascular pulmonar, considerando que nesses animais a tosse representa uma consequência do processo inflamatório pulmonar (MCHAFFIE, 2012). Tanto assim que dos animais que ainda apresentavam tosse no dia +360, um soroconverteu tardiamente (dia +360) e o outro não soroconverteu. Entretanto, outros animais que soroconverteram com 360 dias não apresentavam tosse, sugerindo que fatores como carga parasitaria (absoluta e relativa) ou resposta imune do hospedeiro possam estar envolvidos na gravidade do processo inflamatório (GRANDI *et al.*, 2007; MCHAFFIE, 2012; SIMÓN *et al.*, 2012).

Apesar da dispneia também ter sido um achado raro durante o estudo, o fato de dois animais terem apresentado episódios de dispneia que demandaram tratamento específico entre dois e três meses após a administração dos medicamentos sugere que a morte dos parasitos tenha aumentado a inflamação pulmonar, como já observado anteriormente (RAWLILNGS, 1986; Rozanski e Rush, 2004; Guerreiro, 2005; Calvert, 2008; Kramer *et al.*, 2008; Dingman *et al.*, 2010).

Mesmo que a maioria dos animais não apresentasse dispneia ou tosse, mais da metade dos animais (82,3%) apresentavam ruídos expiratórios aumentados ao exame físico no dia 0, sugerindo que o processo inflamatório já está presente nas pequenas vias aéreas mesmo antes do surgimento de outros sintomas, sendo um achado frequente em cães com dirofilariose (RAWLILNGS, 1986; Atwell, 1988; BOWMAN; ATKINS, 2009; BENDAS, 2018).

A frequência respiratória se manteve discretamente aumentada durante o estudo, sugerindo a necessidade de uma maior captação de oxigênio para suprir as demandas fisiológicas, uma vez que a inflamação pulmonar pode dificultar que as trocas gasosas ocorram normalmente (ATWELL, 1988; BOWMAN; ATKINS, 2009). Entretanto, não é possível descartar que fatores extrínsecos à doença como agitação do paciente e o estresse por estar fora de seu ambiente domiciliar possam ter interferido nesses valores (FERREIRA, 2014)

Como a visualização de helmintos na artéria pulmonar só foi observada em 41,2% dos animais no dia 0, cabe ressaltar que a avaliação ecodopplercardiográfica não deve ser utilizada como meio diagnostico da infecção devido a sua baixa sensibilidade (MADRON, 2016a). A visualização dos parasitos adultos na artéria pulmonar foi se tornando menos frequente ao longo do estudo, sugerindo sua eliminação. Essa eliminação foi confirmada pela soroconversão, apesar de um animal que ainda apresentava parasito visível no interior da artéria pulmonar ter soroconvertido. Este achado aponta para a possibilidade da visualização de parasitos machos, ou de fêmeas jovens, uma vez que os testes sorológicos são menos sensíveis a essas formas (LEE, 1975; MCCALL, *et al.*, 2001; ATKINS, 2003; VELASQUEZ *et al.*, 2014; NELSON *et al.*, 2016; HENRY *et al.*, 2018) ou ainda de parasitos mortos.

Como no momento da inclusão todos os animais apresentavam alterações pulmonares pode-se sugerir que os pulmões sejam os primeiros a sofrer as consequências da infecção. Portanto, como o habitat dos parasitos é principalmente as artérias pulmonares, as alterações radiográficas dos pulmões são um importante parâmetro na avaliação do paciente antes de se iniciar o tratamento ou para acompanhamento terapêutico (CARLISLE, 1988; KRAMER *et al.*, 2008; NELSON *et al.*, 2016; BENDAS, 2018). Sendo assim podemos destacar que a

dirofilariose apesar de ser conhecida popularmente como “verme do coração” (LABARTHE et al, 2009) é uma doença pulmonar.

A inflamação pulmonar identificada como densificação difusa esteve presente em todos os animais nos dias 0 e +180 e apenas um deles deixou de apresentá-la no dia +360, reforçando a importância do cuidado com os pulmões durante o tratamento aduicida. Já a recuperação observada nas condições das artérias pulmonares caudais e do tronco pulmonar durante o tratamento, sugere que o tratamento melhorou as condições vasculares pulmonares apesar de não ter havido diferença significativa.

Considerando os resultados observados é possível sugerir que apesar da importância das alterações pulmonares no dia 0, observou-se alterações sutis que apontaram para melhora das condições pulmonares ao longo do tratamento. É possível que apesar de algumas alterações pulmonares serem cicatriciais (SIMÓN et al., 2012), que outras alterações nos pulmões possam regredir com o passar do tempo, assim sugere-se que o paciente sejam acompanhados mesmo após terem sido considerados livres da infecção.

O efeito do tratamento sobre o sopro sistólico em foco tricúspide, não pode ser um parâmetro de avaliação da eficácia do tratamento, uma vez que no dia 0 apenas 17,6% (3/17) dos animais apresentavam o sopro. Entretanto como o sopro em foco tricúspide é um achado clínico que pode ocorrer em cães com dirofilariose em função do aumento da resistência vascular periférica (RVP) (ATWELL, 1988) que acarreta a sobrecarga pressórica no interior do VD e com isso o aparato valvar permite a passagem de fluxo sanguíneo em alta velocidade (WIEDEMANN;MATTHAY, 1989), o fato de dois animais terem deixado de apresentar o sopro no dia da soroconversão, e conseqüentemente após a eliminação dos parasitos adultos, sugere que a RVP foi reduzida permitindo a coaptação adequada do aparato valvar.

A manutenção da frequência cardíaca dentro dos valores de normalidade da espécie durante o estudo sugere que não houve estimulação simpática traduzida como sinal de estabelecimento de insuficiência cardíaca congestiva (STRICKLAND, 2008), mesmo considerando os animais que demoraram mais para soroconverter (soroconversão aos 360 dias e aqueles que não soroconverteram).

Apesar dos critérios de inclusão terem limitado a idade dos animais evitando aqueles com idade avançada e terem exigido que não apresentassem alterações dignas de nota ao exame clínico, todos apresentavam remodelamento da silhueta cardíaca, sugerindo que essa alteração é frequente em cães portadores da dirofilariose. As alterações de categoria durante o tratamento foram observadas em dois animais, sendo que em um agravou (discreto para moderado) e em outro melhorou (moderado para discreto). Assim, a silhueta cardíaca mostrou-se eficaz na avaliação dos animais apesar de demandar variações intensas para serem perceptíveis ao exame radiográfico (BAHR, 2015)

A manutenção dos valores da avaliação de função sistólica ao longo do estudo demonstra que o tratamento não influenciou na função. Entretanto, quando as medidas do dia 0 foram comparadas com as medidas do momento da soroconversão foi possível observar que a variação da FAC aumentou, sugerindo melhor desempenho da função sistólica do VD (SERRANO-PARREÑO et al., 2017). Contudo, a velocidade da onda S diminuiu o que pode ser interpretado como uma redução do desempenho da função sistólica do VD. Esses achados quando analisados de maneira isolada podem comprometer a sua interpretação, portanto devem ser avaliados em conjunto com a função diastólica.

A função diastólica mostrou que o fluxo transtricuspidio se manteve normal por todo estudo, apesar do Doppler tecidual ter evidenciado a disfunção diastólica do VD. Assim o Doppler tecidual foi o método mais sensível na detecção das alterações da função diastólica. Apesar dessa diferença de sensibilidade ser conhecida na avaliação da função diastólica do ventrículo esquerdo (BOON 2011; MADRON, 2016), pouco se sabe sobre essas medidas na avaliação diastólica do VD, principalmente em cães portadores de dirofilariose. Ao se

observar melhora da função diastólica do VD no momento da soroconversão passando de moderada para discreta na maioria dos animais, sugere que a disfunção diastólica é consequência da dirofilariose, mesmo na ausência de insuficiência cardíaca congestiva.

Quando as informações das funções sistólica e diastólica do VD são avaliadas em conjunto, compreende-se que, apesar da variação da categoria da disfunção diastólica ter sido mínima, traduz a redução da complacência ventricular (BOON, 2011). A redução no relaxamento ventricular reduz o volume diastólico final e, conseqüentemente, reduz a resposta miocárdica do VD representada pela onda S. Contudo, a redução da onda S também pode ser interpretada como a normalização da resposta do VD à sobrecarga, considerando que o aumento da pressão no interior da câmara promova o aumento da força de contração (CHETBOUL et al., 2005). Entretanto, a eliminação dos parasitos adultos interrompe o estímulo para o desenvolvimento das lesões endoteliais e conseqüente redução da sobrecarga pressórica no VD, reduzindo a sua resposta compensatória, traduzida na redução da onda S.

A avaliação do índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) permitiu determinar a existência de sinais de hipertensão arterial pulmonar nos casos que a não foi possível a determinação da mesma por meio da velocidade da regurgitação de valva tricúspide ou pulmonar, pela formula de Bernoulli modificada (VENCO et al, 2014).

Não é possível afirmar que a pressão pulmonar teria melhorado com a eliminação dos parasitos adultos por que a maioria dos animais (76%) não apresentava alteração nas avaliações da pressão pulmonar no dia 0. Entretanto, é interessante ressaltar que não houve diferença entre o dia 0 e o dia da soroconversão sugerindo que a morte dos parasitos adultos, não gerou tromboembolismo que acarretasse repercussão pressórica (RAWLINGS, 1986; ROZANSKI ;RUSH, 2004; GUERREO, 2005; CALVERT, 2008; KRAMER et al., 2008). Além disso, pode-se sugerir que como o IDAP já foi demonstrado como um indicie eficaz para avaliação da pressão pulmonar em cães com dirofilariose (VENCO et al., 2014; VISSER et al., 2016), deva ser sempre associado ao uso da avaliação da velocidade da regurgitação de tricúspide, uma vez que a fibrose vascular dificulta as avaliações. Por outro lado, o IDAP é menos susceptível a intercorrências que podem interferir na avaliação da pressão pulmonar tais como, agitação o paciente, conformação da caixa torácica do animal, tamanho da regurgitação (BOON, 2011; VENCO et al., 2014; MADRÓN, 2016; VISSER et al., 2016).

A valva tricúspide foi pouco influenciada pelo tratamento, tanto assim que nenhum animal desenvolveu insuficiência valvar durante o tratamento, e metade dos que apresentavam essa alteração (2/4), deixou de apresentá-la. Fato semelhante ocorreu com a valva pulmonar, sendo que 57 % dos animais que insuficiência no dia 0 deixaram de apresentá-la no dia +360. Assim como a eliminação dos parasitos melhorou o desempenho das valvas, sugerindo que ocorreu redução da pressão dentro das cavidades direitas do coração.

Como a maioria das avaliações cardíacas (TAPSE, IDAP, E/A, Et/At, Silhueta cardíaca) realizadas no dia 0 foram semelhantes às avaliações do dia da soroconversão, pode-se sugerir que a eliminação dos parasitos adultos pela associação de moxidectina de liberação lenta com doxiciclina não repercutiu negativamente. Ao contrário, observou-se que a função ventricular direita melhorou (FAC e onda S).

Em resumo, pode-se dizer que o tratamento à base de moxidectina de liberação lenta injetável formulada para administração anual quando aplicada duas vezes no ano (dobro da dose recomendada na bula) associada a doxiciclina foi eficaz de eliminar os parasitos adultos da maioria dos animais tratados (15/17) em até 360 dias, sem ocasionar comprometimentos cardiopulmonares ou aqueles avaliados pelos exames de sangue. Vale ressaltar que dentre os animais incluídos havia variação de tamanho desde miniatura pinscher até labrador Retriever e que todos se beneficiaram do tratamento instituído.

## 5 CONCLUSÕES

O tratamento de cães naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis* com moxidectina de liberação lenta injetável formulada para administração anual aplicada duas vezes no ano (dobro da dose recomendada na bula) associada à doxiciclina permitiu concluir que:

1. A utilização *off label* de moxidectina de liberação lenta utilizada foi bem tolerada pelos cães, sem ocasionar efeitos colaterais;
2. O tratamento reduziu a possibilidade de transmissão de microfírias resistentes às lactonas macrocíclicas;
3. O tratamento foi eficaz na eliminação de parasitos adultos na maioria dos animais (15/17) em, no máximo, um ano;
4. A morte dos parasitos não ocasionou reações adversas graves;
5. O protocolo de tratamento proposto é uma alternativa para o tratamento de infecções por *D. immitis*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. **Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs**. 2018. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2018-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 17 Fevereiro 2019.

AL-AZZAM, S. I.; FLECKENSTEIN, L.; CHENG, K. J.; DZIMIANSKI, M. T.; MCCALL, J. W. Comparison of the pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin after oral administration to beagle dogs. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 28, n. 8, p. 431-438, Setembro 2007. ISSN 0142-2782.

ALSOOS, F.; KHADDAM, A. Echocardiographic evaluation methods for right ventricular function. **Journal of Echocardiography**, v. 13, n. 2, p. 43-51, Junho 2015. ISSN 1349-0222.

ARORA, R.; KRUMMERMAN, A.; VIJAYARAMAN, P.; ROSENGARTEN, M.; SURYADEVARA, V.; LEJEMTEL, T.; FERRICK, K. J. Heart rate variability and diastolic heart failure. **Pacing and Clinical Electrophysiology**, v. 27, n. 3, p. 299-303, Março 2004. ISSN 0147-8389.

ATWELL, R.; CARLISLE, C. H. The distribution of filariae, superficial lung lesions and pulmonary arterial lesions following chemotherapy in canine dirofilariasis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 23, n. 10, p. 667-673, Outubro 1982. ISSN 0022-4510.

ATWELL, R. B. Clinical Signs and Diagnosis of Canine Dirofilariasis. *In*: BOREHAM, P. F. L.; ATWELL, R.B. (org.). **Dirofilariasis**. Florida: CRC Press, 1988. cap. 4, p.61-81.

AUSTIN, C. M.; KOK, D. J.; CRAFFORD, D.; SCHAPER, R. The efficacy of a topically applied imidacloprid 10%/moxidectin 2.5% formulation (Advocate®, Advantage® Multi, Bayer) against immature and adult *Spirocerca lupi* worms in experimentally infected dogs. **Parasitology Research**, v. 112, n. 1, p. 91-108, 2013. ISSN 0932-0113.

BADERTSCHER, R. R.; LOSONSKY, J. M.; PAUL, A. J.; KNELLER, S. K. Two-dimensional echocardiography for diagnosis of dirofilariasis in nine dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 7, p. 843-846, Outubro 1988. ISSN 0003-1488.

BANDI, C.; TREES, A. J.; BRATTIG, N. W. *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1-3, p. 215-238, Julho 2001. ISSN 0304-4017.

BENDAS, A.; PAIVA, J.P.; ROSSI, M.I.D.; KNACKFUSS, F.B.; SILVANO, D.R.B.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; GUERRERO, J. LABARTHE, N.. The use of doxycycline in microfilaremic *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) naturally infected dogs. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, V6, n.1, p.55-59, 2008. ISSN 1559-4602.

BENDAS, A. J. R.; ALMEIDA, F. M.; SIMSON, C. V.; LABARTHE, N. Heat pretreatment of canine samples to evaluate efficacy of imidacloprid+ moxidectin and doxycycline in heartworm treatment. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 246, Maio 2017. ISSN 1756-3305.

BENDAS, A. J. R. **Avaliação da associação de moxidectina 2,5% e imidacloprida 10% tópica com doxiciclina no tratamento de cães (*Canis familiaris linnaeus*, 1758) naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**. 2018. 94p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

BICK, R. L. Disseminated intravascular coagulation: pathophysiological mechanisms and manifestations. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1998, Copyright© 1998 by Thieme Medical Publishers, Inc. p.3-18.

BIENHOFF, S. E.; KOK, D. J.; ROYCROFT, L. M.; ROBERTS, E. S. Efficacy of a single oral administration of milbemycin oxime against natural infections of *Ancylostoma braziliense* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1-2, p. 102-105, Julho 2013. ISSN 0304-4017.

BLAGBURN, B. L.; HENDRIX, C. M.; LINDSAY, D. S.; VAUGHAN, J. L.; HEPLER, D. I.; WRIGHT, J. C. Efficacy of milbemycin oxime against naturally acquired or experimentally induced *Ancylostoma spp* and *Trichuris vulpis* infections in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 4, p. 513-516, Abril 1992. ISSN 0002-9645.

BLAGBURN, B. L.; DILLON, A. R.; ARTHUR, R. G.; BUTLER, J. M.; NEWTON, J. C. Comparative efficacy of four commercially available heartworm preventive products against the MP3 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 2-3, p. 189-194, Março 2011. ISSN 0304-4017.

BOON, J. A. **Veterinary echocardiography**. 2. ed. West sussex: John Wiley & Sons, 2011. 767p. ISBN 0813823854.

BORTHAKUR, S. K.; DEKA, D. K.; ISLAM, S.; SARMA, D. K.; SARMAH, P. C. Prevalence and molecular epidemiological data on *Dirofilaria immitis* in dogs from Northeastern States of India. **The Scientific World Journal**, v. 2015, n. 1, p. 1-7, 2015. ISSN 2356-6140.

BOURGUINAT, C.; KELLER, K.; PRICHARD, R. K.; GEARY, T. G. Genetic polymorphism in *Dirofilaria immitis*. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 4, p. 368-373, Março 2011. ISSN 0304-4017.

BOWMAN, D. D.; MANNELLA, C. Macrocyclic lactones and *Dirofilaria immitis* ivermectin and milbemycin oxime efficacy against *Dirofilaria immitis* infections of three and four months' duration in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, p. 1189-1192, 1996.

BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. 7th. Philadelphia: W.B.Saunders, 1999.

BOWMAN, D. D. **Georgi's Parasitology for Veterinarians**. 10, ed. St.louis: Elsevier, 2003. 496p.

BOWMAN, D. D.; ATKINS, C. E. Heartworm biology, treatment, and control. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 39, n. 6, p. 1127-1158, Novembro 2009. ISSN 0195-5616.

BOWMAN, D. D. Heartworms, macrocyclic lactones, and the specter of resistance to prevention in the United States. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 138, Julho 2012. ISSN 1756-3305.

BOWMAN, D. D.; CHARLES, S. D.; ARTHUR, R. G.; SETTJE, T. Laboratory evaluation of the efficacy of 10% imidacloprid+ 2.5% moxidectin topical solution (advantage® multi, advocate®) for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in dogs. **Parasitology Research**, v. 114, n. 1, p. 165-174, Agosto 2015. ISSN 0932-0113.

BOWMAN, D. D.; MCTIER, T. L.; ADAMS, E. L.; MAHABIR, S. P.; LOGIN, J. A.; BIDGOOD, T.; WOODS, D. J. Evaluation of the efficacy of ProHeart® 6 (moxidectin) against a resistant isolate of *Dirofilaria immitis* (JYD-34) in dogs. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 2, p. 502, Novembro 2017. ISSN 1756-3305.

BRADLEY, T. J.; NAYAR, J. An ultrastructural study of *Dirofilaria immitis* infection in the Malpighian tubules of *Anopheles quadrimaculatus*. **The Journal of Parasitology**, v. 73, n. 5, p. 1035-1043, Outubro 1987. ISSN 0022-3395.

BUORO, I. B. J.; ATWELL, R. B.; HEATH, T. Angles of branching and the diameters of pulmonary arteries in relation to the distribution of pulmonary lesions in canine dirofilariasis. **Research in Veterinary Science**, v. 35, n. 3, p. 353-356, Novembro 1983. ISSN 0034-5288.

CALVERT, C.A., R.; MCCALL, J. W. Canine Heartworm Disease *In*: LIVINGSTONE, C. (org.). **Canine and Feline Cardiology**. Philadelphia, 1998. cap. 30, p.519-549

CALVERT, C. A.; RAWLINGS, C. A.; MCCALL, J. W. Canine Heartworm Disease. *In*: FOX, P. R.; SISSON, D.; MOISE, N. S. **Textbook of canine and feline Cardiology, Principles and clinical practice**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999. p.702-726.

CALVERT, C. A.; RAWLINGS, C. A. Canine Heartworm disease. *In*: TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 3. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2001. Cap. 10, p. 215-234.

CALVERT, C. A. T., J. D. Heartworm Disease. *In*: SMITH JR, F. W. K.; TILLEY, L. P.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2008. p.464.

CAMACHO, A.A., MUCHA, C.J. Semiologia do Sistema circulatório de cães e gatos . *In*: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2014. P. 246-274.

CANTARELLA, R. A.; ROCHA, T. M. M.; TERRES, M. F.; ANGELI, A. L. Hipertensão pulmonar em cães: artigo de revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 15, n. 4, p. 224-232, Outubro 2010. ISSN 1517-784X.

CARLISLE, C. H. Canine dirofilariasis: its radiographic appearance. **Veterinary Radiology**, v. 21, n. 3, p. 123-130, Maio 1980. ISSN 0196-3627.

CARLISLE, C. H. Radiology of heart worm disease. In: BOREHAM, P. F. L. e ATWELL, R. B. (org.). **Dirofilariasis**. Florida: CRC Press, 1988. cap. 5, p.83-97.

CASIRAGHI, M.; MCCALL, J. W.; SIMONCINI, L.; KRAMER, L. H.; SACCHI, L.; GENCHI, C.; WERREN, J. H; BANDI, C. Tetracycline treatment and sex-ratio distortion: a role for *Wolbachia* in the moulting of filarial nematodes? **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 12, p. 1457-1468, Novembro 2002. ISSN 0020-7519.

CHETBOUL, V.; SAMPEDRANO, C. C.; GOUNI, V.; CONCORDET, D.; LAMOUR, T.; GINESTA, J.; NICOLLE, A. P.; POUCHELON, J. L.; LEFEBVRE, H. P. Quantitative assessment of regional right ventricular myocardial velocities in awake dogs by Doppler tissue imaging: repeatability, reproducibility, effect of body weight and breed, and comparison with left ventricular myocardial velocities. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 6, p. 837-844, Junho 2005. ISSN 0891-6640.

CHETBOUL, V. Pulmonary Arterial Hypertension. In: CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical Echocardiography of the Dog and Cat**. 1. ed. Missouri: Elsevier, 2016. Cap. 14, p. 229-240.

CIUCĂ, L.; GENCHI, M.; KRAMER, L.; MANGIA, C.; MIRON, L. D.; DEL PRETE, L.; MAURELLI, M. P; GRINGOLI, G.; RINALDI, L. Heat treatment of serum samples from stray dogs naturally exposed to *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in Romania. **Veterinary Parasitology**, v. 225, n. 1, p. 81-85, Julho 2016. ISSN 0304-4017.

CROWDER, C. D.; MATTHEWS, H. E.; ROUNDS, M. A.; LI, F.; SCHUTZER, S. E.; SAMPATH, R.; HOFSTADLER, S. A.; ECKER, D. J.; ESHOO, M. W. Detection of heartworm infection in dogs via PCR amplification and electrospray ionization mass spectrometry of nucleic acid extracts from whole blood samples. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 6, p. 854-859, Junho 2012. ISSN 0002-9645.

DRAKE, J.; GRUNTMEIR, J.; MERRITT, H.; ALLEN, L.; LITTLE, S. E. False negative antigen tests in dogs infected with heartworm and placed on macrocyclic lactone preventives. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 68, Fevereiro 2015. ISSN 1756-3305.

FEITOSA, F.L. Introdução à semiologia. In: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2014. P. 1-24.

FERREIRA, W.L. Semiologia do Sistema respiratório de Pequenos Animais. In: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2014. P. 293-306.

DZIMIANSKI, M.; MCCALL, J.; STEFFENS, W.L.; SUPAKORNDEJ, N.; MANSOUR, A.E.; ARD, M.; MCCALL, S.D.; HACK, R.. The safety of selamectin in heartworm infected dogs and its effect on adult worms and microfilariae. Recent advances in heartworm disease: Symposium, 2001. p.135-140.

GABLER, W.L., CREAMER, H.R. Suppression of human neutrophil functions by 419 tetracyclines. **Journal of Periodontal Research**, v.26, n.1, p. 52-58, Janeiro 1991. ISSN 1600-0765.

GARRIDO-MESA, N., ZARZUELO, A., AND GÁLVEZ, J. Minocycline: far beyond an antibiotic. **British Journal of Pharmacology**, v.169, n.2, p.337–352, Maio 2013. ISSN 1476-5381.

GEARY, T. G.; BOURGUINAT, C.; PRICHARD, R. K. Evidence for macrocyclic lactone anthelmintic resistance in *Dirofilaria immitis*. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, n. 4, p. 186-192, Novembro 2011. ISSN 1938-9736.

GEARY, T. G.; MORENO, Y. Macrocyclic lactone anthelmintics: spectrum of activity and mechanism of action. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 866-872, Maio 2012. ISSN 1389-2010.

GENCHI, C.; VENCO, L.; GENCHI, M. Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. In: CRINGOLI, G. **Mappe parassitologiche**. Naples: Rolando Editore, 2007. v.8, p.137-144.

GENTILE-SOLOMON, J. M.; ABBOTT, J. A. Conventional echocardiographic assessment of the canine right heart: reference intervals and repeatability. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 18, n. 3, p. 234-247, Setembro 2016. ISSN 1760-2734.

GIESTAS, A.; PALMA, I.; RAMOS, M. Sistema renina-angiotensina-Aldosterona e sua modulação farmacológica. **Acta Médica Portuguesa**, v. 23, n. 4, p. 677-688, Julho/Agosto 2010. ISSN 0870-399X.

GLETTTE, J.; HANEBERG, B.; SORNES, S.; SANDBERG, S.; SOLBERG, C. O. Influence of tetracyclines and light on the release of lysozyme from human granulocytes and monocytes. **International Journal of Immunopharmacology**, v.8, n.8, p.875-880, Abril 1986. ISSN 1567-5769.

GOMPF, R. The history and Physical Examination. In: SMITH JR, F. W. K.; TILLEY, L. P.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. **Manual of canine and feline Cardiology**. 4. ed. Misosuri: Saunders, 2008. Cap. 1, p.2-23.

GRANDI, G.; ZIVICNJAK, R.; BECK, R. Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. infections. In: GENCHI, C.; RINALDI, L. (org.). **Mappe parassitologiche – *Dirofilaria*: *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections**. Naple: Rolando Editore., v.8, 2007. p.59-66.

GRANT, T.; WISEMAN, S.; SNYDER, D. E. Effects of milbemycin oxime, combined with spinosad, when administered orally to microfilaremic dogs infected with adult heartworms (*Dirofilaria immitis*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 252, n. 9, p. 1084-1089, Maio 2018. ISSN 0003-1488.

GRIFFIN, M.O., FRICOVSKY, E., CEBALLOS, G., VILLARREAL, F.J. Tetracyclines: A 426 pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review 427 of

the literature. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v.299, n.3, p.539-548. Setembro 2010. ISSN 1522-1563

GUERREO, J. Heartworm pathophysiology in dogs and cats. PROCEEDINGS OF THE 30TH CONGRESS OF THE WORLD SMALL ANIMAL ASSOCIATION, 2005.

HADDAD, F.; DOYLE, R.; MURPHY, D. J.; HUNT, S. A. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. **Circulation**, v. 117, n. 13, p. 1717-1731, Abril 2008. ISSN 0009-7322.

HENRY, L. G.; BRUNSON, K. J.; WALDEN, H. S.; WENZLOW, N.; BEACHBOARD, S. E.; BARR, K. L.; LONG, M. T. Comparison of six commercial antigen kits for detection of *Dirofilaria immitis* infections in canines with necropsy-confirmed heartworm status. **Veterinary Parasitology**, v. 254, n. 1, p. 178-182, Abril 2018. ISSN 0304-4017.

HERTIG, M. The rickettsia, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp. n.) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens*. **Parasitology**, v. 28, n. 4, p. 453-486, Outubro 1936. ISSN 1469-8161.

HISE, A. G.; GILLETTE-FERGUSON, I.; PEARLMAN, E. The role of endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in filarial disease. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 97-104, Fevereiro 2004. ISSN 1462-5814.

JESSUP, M.; SUTTON, M. S. J.; WEBER, K. T.; JANICKI, J. S. The effect of chronic pulmonary hypertension on left ventricular size, function, and interventricular septal motion. **American Heart Journal**, v. 113, n. 5, p. 1114-1122, Maio 1987. ISSN 0002-8703.

JURCUT, R.; GIUSCA, S.; GERCHE, A. L.; VASILE, S.; GINGHINA, C.; VOIGT, J. U. The echocardiographic assessment of the right ventricle: what to do in 2010? **European Journal of Echocardiography**, v. 11, n. 2, p. 81-96, Março 2010. ISSN 2047-2412.

KARTMAN, L. Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). **Experimental Parasitology**, v. 2, n. 1, p. 27-78, Janeiro 1953. ISSN 0014-4894.

KELLIHAN, H. B.; STEPIEN, R. L. Pulmonary hypertension in dogs: diagnosis and therapy. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 40, n. 4, p. 623-641, Julho 2010. ISSN 0195-5616.

KIMMENADE, R. R. J. V.; JANUZZI, J. L. The evolution of the natriuretic peptides—Current applications in human and animal medicine. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 11, n. 1, p. 59-521, Maio 2009. ISSN 1760-2734.

KNIGHT, D. H. Heartworm infection. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 17, n. 6, p. 1463-1518, Novembro 1987. ISSN 0195-5616.

KOZEK, W. J. What is new in the *Wolbachia*/*Dirofilaria* interaction? **Veterinary Parasitology**, v. 133, n. 2-3, p. 127-132, Outubro 2005. ISSN 0304-4017.

KRAMER, L.; GRANDI, G.; LEONI, M.; PASSERI, B.; MCCALL, J. GRENCI, C.; MORTARINO, M.; BAZZOCCHI, C. *Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. **Veterinary Parasitology**, Estados Unidos da América, v. 158, n. 3, p. 191-195, Dezembro 2008. ISSN 0304-4017.

LABARTHE, N.; ALVES, L.; SERRÃO, M. L. Dirofilariose em pequenos animais domésticos e como zoonose. In: ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LF livros, 2002. Cap. 6, p.135.

LABARTHE, N.; PAIVA, J.; CAMPOS, J. Dirofilariose. In: MARCONDES, C. B. **Doenças Transmitidas e causadas por artrópodes**. 1ed. São Paulo: Ateneu, 2009. cap. 20, p.283-299.

LABARTHE, N. V.; PAIVA, J. P.; REIFUR, L.; ALMEIDA, F. M.; MELO, A.; PINTO, C. J. C.; JULIANI, P. S.; ALMEIDA, M. A. O.; ALVES, L. C. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 493, Novembro 2014. ISSN 1756-3305.

LAPA, M. S.; FERREIRA, E. V. M.; JARDIM, C.; MARTINS, B. C. S.; ARAKAKI, J. S. O.; SOUZA, R. Características clínicas dos pacientes com hipertensão pulmonar em dois centros de referência em São Paulo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 3, p. 139-143, Maio/Junho 2006. ISSN 0104-4230.

LEIDY, J. A. A synopsis of entozoan and some of ther ecto-congeneres observed by the author. **Proc. Ac. Natl. Sc. Philadelphia**, v. 8, p. 43-59, 1856.

LITTLE, S. E.; RAYMOND, M. R.; THOMAS, J. E.; GRUNTMEIR, J.; HOSTETLER, J. A.; MEINKOTH, J. H.; BLAGBURN, B. Heat treatment prior to testing allows detection of antigen of *Dirofilaria immitis* in feline serum. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-4, Janeiro 2014. ISSN 1756-3305.

LITTLE, S.; SALEH, M.; WOHLTJEN, M.; NAGAMORI, Y. Prime detection of *Dirofilaria immitis*: understanding the influence of blocked antigen on heartworm test performance. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 186, Março 2018. ISSN 1756-3305.

LIU, S. K.; YARNS, D. A.; CARMICHAEL, J. A.; TASHJIAN, R. J. Pulmonary collateral circulation in canine dirofilariasis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, n. 10, p. 1723-1735, Outubro 1969. ISSN 0002-9645.

LOK, J. B. Taxonomy and Distribution. In: BOREHAM, P. F. L. ATWELL, R.B (org.). **Dirofilariases** 1<sup>st</sup> ed. Florida: CRC Press, 1988. p.249.

MACNEE, W. Pathophysiology of cor pulmonale in chronic obstructive pulmonary disease. Part two. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 150, n. 4, p. 1158-1168, Outubro 1994. ISSN 1073-449X.

MADRON, E. Dirofilariais: Specific Bidimensional Aspects. In: CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical Echocardiography of the Dog and Cat**. 1. ed. Missouri: Elsevier, 2016a. cap. 15, p.241-243.

\_\_\_\_\_. Evaluation of the Right Ventricular Global Systolic Function. In: CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical Echocardiography of the Dog and Cat**. 1. ed. Missouri: Elsevier, 2016b. cap. 10, p.151-156.

MCCALL, J. W.; MCTIER, T. L.; RYAN, W. G.; GROSS, S. J.; SOLL, M. D. Evaluation of ivermectin and milbemycin oxime efficacy against *Dirofilaria immitis* infections of three and four months' duration in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 8, p. 1189-1192, Agosto 1996. ISSN 0002-9645.

MCCALL, J. W., RYAN, W.G; ROBERTS, R.E.; Dzimianski, M.T. Heartworm adulticidal activity of prophylactic doses of ivermectin (6 mg/kg) plus pyrantel administered monthly to dogs. Recent advances in heartworm disease., 1998, Tampa (FL). p.209-215.

MCCALL, J. GUERRERO, J.; ROBERTS, R.E.; SUPAKORNDEJ, N.; MANSOUR, A.E.; DZIMIANSKI, M.T.; MCCALL, S.D. Further evidence of clinical prophylactic, retro-active (reach-back) and adulticidal activity of monthly administrations of ivermectin (Heartgard Plus™) in dogs experimentally infected with heartworms. Recent advances in heartworm disease: Symposium, 2001. p.189-200.

MCCALL, J. W. SUPAKORNDEJ, N.; DONOGHUE, A.R.; TURNBULL, R.K.;RADECKI, S.V. Evaluation of the performance of canine heartworm antigen test kits licensed for use by veterinarians and canine heartworm antigen tests conducted by diagnostic laboratories. Proceedings of Heartworm Symposium, 2001, Batavia.

MCCALL, J. W. SUPAKORNDEJ, P.; DZIMIANSKI, M.T.;SUPAKORNDEJ, N.;MANSOUR, A.; JUN, J.J.; MCCALL, S.D.;WANG, G.T.; SINKA, A.;RULLI, R.D. Evaluation of retroactive and adulticidal activity of moxidectin canine SR (sustained release) injectable formulation against *Dirofilaria immitis* in beagles. Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium. Batavia, IL: American Heartworm Society, 2001. p.165-72.

MCCALL, J. W. The safety-net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: a review, an update, and recommendations. **Veterinary Parasitology**, , v. 133, n. 2-3, p. 197-206, Outubro 2005. ISSN 0304-4017.

MCCALL, J. W.; GENCHI, C.; KRAMER, L. H.; GUERRERO, J.; VENCO, L. Chapter 4 heartworm disease in animals and humans. **Advances in Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 193-285, Janeiro 2008. ISSN 0065-308X.

MCCALL, J. W.; KRAMER, L.; GENCHI, C.; GUERRERO, J.; DZIMIANSKI, M. T.; MANSOUR, A.; MCCALL, S. D.; CARSON, B. Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 1-2, p. 5-13, Novembro 2014. ISSN 0304-4017.

MCHAFFIE, J. *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 499-502, Setembro 2012. ISSN 0932-0113.

MCTIER, T. L.; PULLINS, A.; INSKEEP, G. A.; GAGNON, G.; FAN, H.; SCHOELL, A.; BIDGOOD, T.; LOGIN, J.; MEEUS, P. Microfilarial reduction following ProHeart® 6 and

ProHeart® SR-12 treatment in dogs experimentally inoculated with a resistant isolate of *Dirofilaria immitis*. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 2, p. 485, Novembro 2017. ISSN 1756-3305.

MIRCEAN, M.; IONICA, A. M.; MIRCEAN, V.; GYORKE, A.; CODEA, A. R.; TABARAN, F. A.; TAULESCU, M.; DUMITRACHE, M. O. Clinical and pathological effects of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in a dog with a natural co-infection. **Parasitology International**, v. 66, n. 3, p. 331-334, Junho 2017. ISSN 1383-5769.

MORCERF, F. A. **Ecocardiografia uni-bidimensional, transesofágica e doppler**. Revinter, 1996. ISBN 8573090715.

MORITA, T.; NAKAMURA, K.; OSUGA, T.; LIM, S. Y.; YOKOYAMA, N.; MORISHITA, K.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Repeatability and reproducibility of right ventricular Tei index valves derived from three echocardiographic methods for evaluation of cardiac function in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 77, n. 7, p. 715-720, Julho 2016. ISSN 0002-9645.

MORITA, T.; NAKAMURA, K.; OSUGA, T.; MORISHITA, K.; SASAKI, N.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Right ventricular function and dyssynchrony measured by echocardiography in dogs with precapillary pulmonary hypertension. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 23, n. 1, p. 1-14, Junho 2019. ISSN 1760-2734.

NAEIJJE, R. Pulmonary hypertension and right heart failure in chronic obstructive pulmonary disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 2, n. 1, p. 20-22, Abril 2005. ISSN 1546-3222.

NAKAMURA, K.; MORITA, T.; OSUGA, T.; MORISHITA, K.; SASAKI, N.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Prognostic value of right ventricular Tei index in dogs with myxomatous mitral valvular heart disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 1, p. 69-75, Janeiro 2016. ISSN 0891-6640.

NELSON, C. T.; MCCALL, J. W.; RUBIN, S. B.; BUZHARDT, L. F.; DORION, D. W.; GRAHAM, W.; LONGHOFER, S. L.; GUERRERO, J.; ROBERTSON-PLOUCH, C.; PAUL, A. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 133, n. 2-3, p. 255-266, Outubro 2005. ISSN 0304-4017.

NELSON, C.; MCCALL, J.; CARITHERS, D. **Current canine guidelines for the diagnosis, prevention, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (revised July 2014)**. 2016. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2014-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 10 Janeiro 2019.

NELSON, C. T.; MYRICK, E. S.; NELSON, T. A. Clinical benefits of incorporating doxycycline into a canine heartworm treatment protocol. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 2, p. 515, Novembro 2017. ISSN 1756-3305.

NEWTON, W. L.; WRIGHT, W. H. The occurrence of a dog filariid other than *Dirofilaria immitis* in the United States. **The Journal of Parasitology**, v. 42, n. 3, p. 246-258, Junho 1956. ISSN 0022-3395.

NOVOTNY, M. J.; KRAUTMANN, M. J.; EHRHART, J. C.; GODIN, C. S.; EVANS, E. I.; MCCALL, J. W.; SUN, F.; ROWAN, T. G.; JERNIGAN, A. D. Safety of selamectin in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 91, n. 3-4, p. 377-391, Julho 2000. ISSN 0304-4017.

PAIVA, J. P. **Interação entre filarídeos, vetores e Wolbachia Hertig, 1936: um foco ativo de transmissão de Dirofilaria immitis (Leidy, 1856) como modelo.** 2009. 172p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

PAPICH, M. G. Considerations for using minocycline vs doxycycline for treatment of canine heartworm disease. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 2, p. 493, Novembro 2017. ISSN 1756-3305.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, n. 1, p. 134-153, Dezembro 2012. ISSN 2211-3207.

PULLIAM, J. D.; SEWARD, R. L.; HENRY, R. T.; STEINBERG, S. A. Investigating ivermectin toxicity in Collies. **Veterinary Medicine**, v. 7, n. 1, p. 33-40, 1985.

RAILLIET, A.; HENRY, A. A Sur un Filarie péritonéale des porcins. **Bulletin de la Société de pathologie exotique**, v. 4, p. 386-389, 1911.

RAO, R. U.; MOUSSA, H.; WEIL, G. J. Brugia malayi: effects of antibacterial agents on larval viability and development in vitro. **Experimental Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 77-81, Maio 2002. ISSN 0014-4894.

RAWLINGS, C. A.; LOSONSKY, J. M.; LEWIS, R. E. Susceptibility of dogs with heartworm disease to hypoxia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 9, p. 1365-1369, Setembro 1977. ISSN 0002-9645.

RAWLINGS, C. A. **Heartworm Disease in Dogs and Cats.** Philadelphia: Saunders, 1<sup>ST</sup> ed. 1986.

REDINGTON, B. C. et al. The various microfilariae found in dogs in the United States. In: MORGAN, H. C., Proceedings Of Heartworm Symposium 1977, Bonner Springs, KS. p.14-21.

REINEMEYER, C. R.; COURTNEY, C. H. Quimioterapia das Doenças Parasitárias. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 11, p. 791-818.

RENDER, M. L.; WEINSTEIN, A. S.; BLAUSTEIN, A. S. Left ventricular dysfunction in deteriorating patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Chest**, v. 107, n. 1, p. 162-168, Janeiro 1995. ISSN 0012-3692.

RIDYARD, A. Heartworm and lungworm in dogs and cats in the UK. **IN PRACTICE**, Londres, v. 27, n. 5, p. 237-237, Março 2005. ISSN 0263-841X.

RIVIERE, J. E.; SPOO, W. Antibióticos tetraciclínicos. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 42, p. 692-702.

ROSSI, M. I. D.; AGUIAR-ALVES, F.; SANTOS, S.; PAIVA, J.; BENDAS, A.; FERNANDES, O.; LABARTHE, N. Detection of *Wolbachia* DNA in blood from dogs infected with *Dirofilaria immitis*. **Experimental Parasitology**, v. 126, n. 2, p. 270-272, Outubro 2010. ISSN 0014-4894.

SANGSTER, N. C. Anthelmintic resistance: past, present and future. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 115-124, Janeiro 1999. ISSN 0020-7519.

SASAKI, Y.; KITAGAWA, H.; HIRANO, Y. Relationship between pulmonary arterial pressure and lesions in the pulmonary arteries and parenchyma, and cardiac valves in canine dirofilariasis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 54, n. 4, p. 739-744, Agosto 1992. ISSN 0916-7250.

SAVADELIS, M. D.; OHMES, C. M.; HOSTETLER, J. A.; SETTJE, T. L.; ZOLYNAS, R.; DZIMIANSKI, M. T.; MOORHEAD, A. R. Assessment of parasitological findings in heartworm-infected beagles treated with Advantage Multi® for dogs (10% imidacloprid+ 2.5% moxidectin) and doxycycline. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 245, Maio 2017. ISSN 1756-3305.

SAVADELIS, M. D.; DAY, K. M.; BRADNER, J. L.; WOLSTENHOLME, A. J.; DZIMIANSKI, M. T.; MOORHEAD, A. R. Efficacy and side effects of doxycycline versus minocycline in the three-dose melarsomine canine adulticidal heartworm treatment protocol. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 671, Dezembro 2018. ISSN 1756-3305.

SAVADELIS, M. D.; ROVETO, J. L.; OHMES, C. M.; HOSTETLER, J. A.; SETTJE, T. L.; DZIMIANSKI, M. T.; MOORHEAD, A. R. Evaluation of heat-treating heartworm-positive canine serum samples during treatment with Advantage Multi® for Dogs and doxycycline. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 98, Fevereiro 2018. ISSN 1756-3305.

SERRANO-PARREÑO, B.; CARRETON, E.; CARO-VADILLO, A. C.; FALCON-CORDON, Y.; FALCON-CORDON, S. MONTOYA-ALONSO, J. A. Evaluation of pulmonary hypertension and clinical status in dogs with heartworm by Right Pulmonary Artery Distensibility Index and other echocardiographic parameters. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 106, Fevereiro 2017. ISSN 1756-3305.

SILVA, L. B.; FERREIRA, C. A.; BLACHER, C.; LEÃES, P.; HADDAD, H. Peptídeo natriurético tipo-B e doenças cardiovasculares. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 81, n. 5, p. 529-534, Novembro 2003. ISSN 0066-782X. Versão *online*. DOI 10.1590/2003001300011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066782X2003001300011&nrm=isso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066782X2003001300011&nrm=isso). Acesso em: 24 Janeiro 2019.

SIMÓN, F.; KRAMER, L. H.; ROMAN, A.; BLASINI, W.; MORCHON, R.; MARCOS-ATXUTEGI, C.; GRANDI, G.; GENCHI, C. Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 2, p. 161-171, Fevereiro 2007. ISSN 0165-7380.

SIMÓN, F.; SILES-LUCAS, M.; MORCHON, R.; GONZALEZ-MIGUEL, J.; MELLADO, I.; CARRETON, E.; MONTOYA-ALONSO, J. A. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 507-544, Julho 2012. ISSN 0893-8512.

SMYTHE, A. B.; SANDERSON, M. J.; NADLER, S. A. Nematode small subunit phylogeny correlates with alignment parameters. **Systematic Biology**, v. 55, n. 6, p. 972-992, Dezembro 2006. ISSN 1063-5157.

SOULSBY, E. J. L. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**. 1968.

STRICKLAND, K. N. Pathophysiology and Therapy of Heart Failure. In: SMITH JR, F. W. K.; TILLEY, L. P.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2008. cap. 15, p. 288-314.

TAYLOR, A. E. R. The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of Helminthology**, v. 34, n. 1-2, p. 27-38, Agosto 1960. ISSN 1475-2697.

TAYLOR, M.; HOERAUF, A. *Wolbachia* bacteria of filarial nematodes. **Parasitology Today**, v. 15, n. 11, p. 437-442, Novembro 1999. ISSN 0169-4758.

THRALL, D. E.; BADERTSCHER, R. R.; LEWIS, R. E.; MCCALL, J. W.; LONSONSKY, J. M. Radiographic changes associated with developing dirofilariasis in experimentally infected dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 1, p. 81-90, Janeiro 1980. ISSN 0002-9645.

THRALL, D. E. Practical approach to obtaining and interpreting thoracic radiographs in dogs, with emphasis on heartworm disease and its mimics. American Heartworm Society 14th Triennial Symposium 2013, Florida.

TILLEY, L. P. Analysis of Common Canine Cardiac Arrhythmias. In: TILLEY, L. P. (org.). **Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and treatment** Philadelphia: Lea & Febiger, 1985. cap. 6, p.127-207. ISBN 0812109201.

VELASQUEZ, L.; BLAGBURN, B. L.; DUNCAN-DECOQ, R.; JOHNSON, E. M.; ALLEN, K. E.; MEINKOTH, J.; GRUNTMEIR, J.; LITTLE, S. E. Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 1-2, p. 67-70, Novembro 2014. ISSN 0304-4017.

VENCO, L.; GENCHI, C.; VIGEVANI COLSON, P.; KRAMER, L. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. Recent Advances in Heartworm Disease, Symposium, 2003. p.111-24.

VENCO, L. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. In: GENCHI, C.; RINALDI, L. ; CRINGOLI, G. **Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections**. Naples: Rolando Editore, 2007. p.117– 125.

VENCO, L.; MIHAYLOVA, L.; BOON, J. A. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index). A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 1-2, p. 60-66, Novembro 2014. ISSN 0304-4017.

VENCO, L.; MANZOCCHI, S.; GENCHI, M.; KRAMER, L. H. Heat treatment and false-positive heartworm antigen testing in ex vivo parasites and dogs naturally infected by *Dirofilaria repens* and *Angiostrongylus vasorum*. **Parasites & Vectors**, Reino Unido, v. 10, n. 2, p. 476, Novembro 2017. ISSN 1756-3305.

VISSER, L. C.; SCANSEN, B. A.; SCHOBBER, K. E.; BONAGURA, J. D. Echocardiographic assessment of right ventricular systolic function in conscious healthy dogs: repeatability and reference intervals. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 17, n. 2, p. 83-96, Junho 2015. ISSN 1760-2734.

VISSER, L. C.; IM, M. K.; JOHNSON, L. R.; STERN, J. A. Diagnostic value of right pulmonary artery distensibility index in dogs with pulmonary hypertension: comparison with Doppler echocardiographic estimates of pulmonary arterial pressure. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 2, p. 543-552, Fevereiro 2016. ISSN 0891-6640.

WARE, W. Abdominal Distension. In: WARE, W. **Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine**. 1. ed. London: Manson, 2011a. cap. 11, p. 121-126.

\_\_\_\_\_. Jugular vein Distension or Pulsation. In: WARE, W. **Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine**. 1. ed. London: Manson, 2011b. cap. 10, p. 117-120.

\_\_\_\_\_. Syncope or intermittent Collapse. In: WARE, W. **Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine**. 1. ed. London: Manson, 2011c. cap. 14, p. 139-144.

WIEDEMANN, H. P.; MATTHAY, R. A. Management of cor pulmonale. In: SM, S. (org.). **Heart–Lung Interactions in Health and Disease**. New York: Marcel Dekker, 1989. p.920-926.

WOODSON, B. T.; BRUSKY, L. T.; SAURAJEN, A.; JARADEH, S. Association of autonomic dysfunction and mild obstructive sleep apnea. **Otolaryngology--Head and Neck Surgery**, v. 130, n. 6, p. 643-648, Junho 2004. ISSN 0194-5998.

TAKASHIMA, Y., ONODA, I., CHIOUS.P., KITO, K. In vitro canine platelet aggregation caused by *Dirofilaria immitis* extract. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n.2, p. 388-392. Fevereiro 2017. ISSN 0916-7250

## ANEXOS

### Anexo A. Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFICÁCIA DA ASSOCIAÇÃO MOXIDECTINA DE LIBERAÇÃO LENTA (ProHeart®SR-12) + DOXICICLINA NO TRATAMENTO DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)", protocolada sob o CEUA nº 3341050617, sob a responsabilidade de **Jonimar Pereira Paiva** e equipe; *Norma Vollmer Labarthe; Flavya Mendes de Almeida; Bruno Ricardo Soares Alberigi da Silva; Ana Carolina Mota Rodrigues; Mariana Cazaux Pinho; Alexandre Jose Rodrigues Bendas* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 13/09/2017.

We certify that the proposal "EFFICACY OF ASSOCIATION MOXIDECTIN OF SLOW RELEASE (ProHeart® SR-12) + DOXYCYCLINE IN THE TREATMENT OF DOGS NATURALLY INFECTED WITH *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)", utilizing 40 Dogs (males and females), protocol number CEUA 3341050617, under the responsibility of **Jonimar Pereira Paiva** and team; *Norma Vollmer Labarthe; Flavya Mendes de Almeida; Bruno Ricardo Soares Alberigi da Silva; Ana Carolina Mota Rodrigues; Mariana Cazaux Pinho; Alexandre Jose Rodrigues Bendas* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 09/13/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2017** a **08/2021** Área: **Medicina E Cirurgia Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 10 anos**

N: **40**

Linhagem: **Diversas raças**

Peso: **1 a 60 kg**

Local do experimento: Os exames clínicos, de ecodopplercardiograma, ultrassonografia, radiografias torácicas e análises das amostras de sangue serão realizados no Instituto de especialidades em Medicina Veterinária (IEMEV), localizado na Rua dezanove de fevereiro, 65 - Botafogo - Rio de Janeiro - RJ.

Seropédica, 13 de setembro de 2017

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva

Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo B. Consentimento livre e esclarecido dos responsáveis pelos animais

**CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DOS RESPONSÁVEIS PELOS ANIMAIS AUTORIZAÇÃO**

Eu, \_\_\_\_\_, responsável pelo(s) animal(is) abaixo discriminado(s):

Nome(s) do(s) animal(s):(1) \_\_\_\_\_ n° do animal: \_\_\_\_\_  
(2) \_\_\_\_\_ n° do animal: \_\_\_\_\_  
(3) \_\_\_\_\_ n° do animal: \_\_\_\_\_  
(4) \_\_\_\_\_ n° do animal: \_\_\_\_\_

autorizo a sua participação na pesquisa EFICACIA DA ASSOCIAÇÃO MOXIDECTINA DE LIBERAÇÃO LENTA (ProHeart®SR-12) + DOXICICLINA NO TRATAMENTO DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)

Sei que haverá amostra (s) de sangue e urina coletadas, sendo realizados os exames ecocardiográfico, ultrassonografia abdominal, radiografia torácica e periodicamente submetidos ao tratamento da dirofilariose canina utilizando-se a associação moxidectina + doxiciclina e estou ciente dos procedimentos necessários. Sei também que o produto a base de moxidectina será aplicado a intervalos menores do que a recomendação da bula.  
Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Rio de Janeiro, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_. Hora: \_\_\_\_\_

Sei que posso retirar meu animal do estudo a qualquer momento, independentemente de qualquer situação.

\_\_\_\_\_  
Assinatura Responsável pelo(s) animal(is)

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Responsável pelo estudo

Anexo C. Ficha de identificação do paciente e dos dados do exame clínico

Ficha de captura de dados referentes aos animais

“Avaliação cardiopulmonar e hematológica de cães (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758) naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) submetidos ao tratamento com doxiciclina associada à moxidectina”

ANIMAL
Data
Dia

Animal

Nome: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Sexo: ( ) Macho ( ) Fêmea Estado reprodutivo ( ) Castrado ( ) Inteiro  
 Peso: \_\_\_\_\_  
 Pelagem: \_\_\_\_\_

Responsável

Nome: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_  
 Telefone: \_\_\_\_\_

Histórico

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

EXAME CLÍNICO

Contactantes: ( ) Não ( ) Sim (Quantos? ( ) Cães ( ) Gatos)  
 Atividade: ( ) Ativo ( ) Sedentário  
 Doença Crônica: ( ) Sim ( ) Não  
 Qual: \_\_\_\_\_ Tempo de diagnóstico: \_\_\_\_\_

Histórico / Anamnese Cardiovascular

Tosse: ( ) Não ( ) Sim  
 Início: \_\_\_\_\_ Evolução: \_\_\_\_\_ Frequência/ momento: \_\_\_\_\_  
 Dispneia ao Repouso: ( ) Sim ( ) Não  
 Cianose: ( ) Sim ( ) Não  
 Síncope: ( ) Sim ( ) Não / Convulsão: ( ) Sim ( ) Não  
 Doença Familiar: ( ) sim ( ) Não ( ) Não sabe Qual: \_\_\_\_\_

EXAME FÍSICO

FR: \_\_\_\_\_ rpm  
 Mucosas: ( ) Normocoradas ( ) Hipocoradas ( ) Congestas ( ) Ictéricas ( ) Cianóticas  
 Palpação Abdominal: ( ) Sem alteração ( ) Alterado: \_\_\_\_\_  
 Ausculta Cardíaca:

Ritmo: \_\_\_\_\_  
 Sopros: ( ) Não ( ) Sim Foco: \_\_\_\_\_ Grau: \_\_\_\_/VI

Ausculta Pulmonar

( ) Ruído Normal  
 ( ) Ruído Aumentado: ( ) Inspiratório ( ) Expiratório  
 ( ) Ruído Descontínuo: ( ) Fino ( ) Áspero

## Anexo D – Indicações, dosagem e administração da moxidectina de liberação lenta (Proheart®-SR12) segundo a bula.

### INDICAÇÕES

**ProHeart® SR-12** é indicado para uso em cães com **idade igual ou superior a 6 meses** (24 semanas), para a prevenção anual da enfermidade causada pelo verme do coração (*Dirofilaria immitis*), conhecida como Dirofilariose.

**ProHeart® SR-12** também é indicado para o tratamento de infecções existentes de *Ancylostoma caninum*, nos estágios larval e adulto. Em cães com idade superior a 6 meses, a aplicação de **ProHeart® SR-12** na dosagem recomendada pode conferir proteção contra novas infecções pelo *Ancylostoma caninum* por períodos de até 4 meses.

### DOSAGEM E ADMINISTRAÇÃO

**Dose:** **ProHeart® SR-12** deve ser administrado por via subcutânea no lado direito ou esquerdo da região cervical do animal, cranial à escápula, seguindo as normas usuais de anti-sepsia, na dose de 0,05 mL da suspensão reconstituída por kg de peso corporal (1 mL para cada 20 kg de peso corporal). Esta quantidade de suspensão irá fornecer 0,5 mg de Moxidectina/kg de peso corporal. Para assegurar uma administração precisa, calcular cada dose baseada no peso do cão no momento da aplicação. **Não aumentar a dose para filhotes em crescimento, antecipando seu peso esperado quando adulto. Não administrar mais de 3 mL num único local, ou seja, para cães com mais de 60 kg deve-se considerar mais de um local de aplicação. Recomenda-se registrar na ficha do cão o local exato de cada aplicação, alternando com outros locais em futuras aplicações.** O quadro abaixo pode ser usado como guia.

QUADRO DE DOSES

Peso do cão	Dose Volume	Peso do cão	Dose Volume
kg	mL/cão	kg	mL/cão
1	0,05	35	1,75
5	0,25	40	2,00
10	0,50	45	2,25
15	0,75	50	2,50
20	1,00	55	2,75
25	1,25	60	3,00
30	1,50	65	3,25

Cães acima de 65 kg devem receber 0,25 mL a cada 5 kg adicionais de peso corporal.

# Anexo E. Apresentação de trabalho científico em forma de banner, na V Semana da pós graduação de medicina veterinária da UFRRJ, com dados obtidos na fase de inclusão do estudo



## AValiação ECOCARDIOGRÁFICA VENTRICULAR DIREITA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *Dirofilaria immitis* (Leydi, 1856)

<sup>1</sup>ALBERIGI, Bruno Ricardo Soares; <sup>2</sup>ABEN ATHAR, Carolina do Valle; <sup>3</sup>LEMONS, Nathalia Marques de Oliveira; <sup>4</sup>LABARTHE, Norma Vollmer; <sup>5</sup>PAIVA, Jonimar Pereira.

<sup>1</sup> Aluno de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFRRJ, bolsista CAPES; <sup>2</sup> Residente do Hospital Veterinário, UFRRJ; <sup>3</sup> Professora, PPGBIOS FIOCRUZ; <sup>4</sup> Professor adjunto do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, UFRRJ

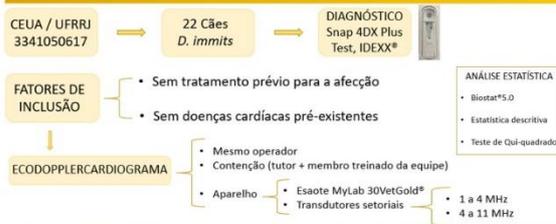
**Palavras chave:** *Dirofilariose*; *ecocardiograma*; *ventrículo direito*.



### INTRODUÇÃO

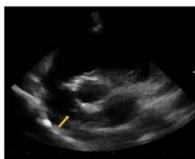
Ao longo dos anos, mais atenção vem sendo dada a avaliação da função ventricular direita por meio da análise ecodoppler cardiográfica<sup>6,7,8</sup>. Nesse cenário começou a se ter uma maior compreensão da fisiopatogenia das doenças que comprometem a função do ventrículo direito (VD) como por exemplo a dirofilariose<sup>7</sup>, que é uma doença reemergente, causada pelo nematódeo *Dirofilaria immitis*, que tem como habitat a artéria tronco pulmonar e as câmaras direitas do coração<sup>4</sup> podendo causar sintomas secundários a insuficiência cardíaca congestiva direita como: tosse, cianose, ascite, hipertensão pulmonar, síncope e até mesmo óbito<sup>3</sup>. O ecodoppler cardiograma é um exame eficaz para avaliação da morfologia e função miocárdica, sendo possível por meio dele avaliar a consequência de doenças cardíacas, assim como permitir que seja feita uma escolha terapêutica mais adequada para os pacientes e acompanhamento do desempenho miocárdio diante a terapia instituído<sup>5</sup>. Objetivou-se com o presente trabalho, determinar as alterações ecocardiográficas no VD em cães naturalmente infectados por *D. immitis*.

### MATERIAIS E MÉTODOS



### RESULTADOS E DISCUSSÃO

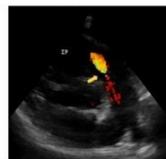
Em 31,8% dos animais foi possível a identificação de parasitos de *D. immitis* no interior da artéria tronco pulmonar, não sendo em nenhum dos paciente identificados em átrio e/ou ventrículo direito (figura 1). Apesar da sensibilidade do ecocardiograma não ser alta para o diagnóstico da doença, ele pode auxiliar na identificação dos parasitos e de outras alterações morfológicas e hemodinâmicas geralmente relacionadas a quadros de hipertensão pulmonar<sup>5</sup>. Outras alterações como: aumento de átrio direito (22,7%); insuficiência da valva tricúspide (27,3%) (figura 2); insuficiência da valva pulmonar (31,8%) (figura 3) e aumento do ventrículo direito (4,54%) foram observados como alterações secundárias à Dirofilariose. Na tabela 1 é possível evidenciar as médias das diferentes medidas ecocardiográficas realizadas no presente estudo.



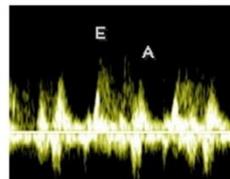
**Figura 1.** Exame ecocardiográfico de paciente canino, no corte paraesternal transverso da base direito evidenciando presença de estrutura hiperecótica (seta) no artéria tronco pulmonar compatível com presença de parasito de *D.immitis*. Fonte: Arquivo Pessoal



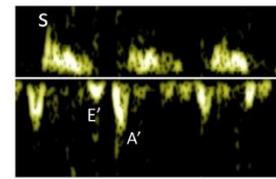
**Figura 2.** Exame ecocardiográfico de paciente canino, no corte paraesternal apical quatro câmaras evidenciando presença de fluxo turbulento no interior do átrio direito – insuficiência da valva tricúspide (seta) em cão com dirofilariose. Fonte: Arquivo Pessoal



**Figura 3.** Exame ecocardiográfico, no corte paraesternal longitudinal esquerdo modificado, evidenciando presença de insuficiência de valva pulmonar em cão com dirofilariose. Fonte: Arquivo Pessoal



**Figura 4.** Estudo Doppler do fluxo tricúspideo, evidenciando ondas E e A, e padrão de função diastólica aparentemente normal



**Figura 5.** Estudo Doppler tecidual do ventrículo direito, evidenciando inversão das ondas E e A indicando disfunção diastólica do VD.

Em 8,8% dos casos, foi observado a presença de disfunção diastólica do VD (figura 4). Entretanto, na avaliação pelo Doppler tecidual a disfunção diastólica desta cavidade esteve presente em 77,3% dos casos (figura 5). Este achado sugere que a avaliação pelo Doppler tecidual pode ser mais fidedigna que a análise da função diastólica pelo fluxo tricúspideo ( $p=0.003$ ), que acaba evidenciando neste animais um padrão pseudo normal.

**Tabela 1.** Variáveis e valores médios das medidas ecocardiográficas da função ventricular direita de cães naturalmente infectados por *D.immitis*

MEDIDAS	VALOR MÍNIMO	MÉDIA±DESVIO PADRÃO	VALOR MÁXIMO
IDAP	15	49,54±17,11	80
TAPSE:AO	3,17	6,08±1,71	9,52
FAC	25	57,81±12,30	79
ONDA S	11,5	21,36±7,84	40,9
E/A'	0,01	0,84±0,41	1,8
E/A	0,62	1,19±0,28	1,7

IDAP= índice de distendibilidade do ramo direito da artéria pulmonar; TAPSE:AO = Relação do deslocamento do anel da valva tricúspide com a aorta; FAC=variação fracional da área do ventrículo direito; E/A' - avaliação da função diastólica do ventrículo direito pelo Doppler tecidual; E/A – avaliação pelo Doppler pulsado do fluxo tricúspideo

### CONCLUSÃO

O presente trabalho nos permite concluir que mesmo que a pressão pulmonar estimada não possa ser mensurada, outras medidas ecocardiográficas podem ser realizadas para identificação de disfunções no ventrículo direito. Nesse cenário a disfunção diastólica do ventrículo direito, mesmo que discreta, foi a alteração ecocardiográfica mais frequente nos cães portadores de dirofilariose. Este achado demonstra que mais atenção deve ser dada a função diastólica do VD e no seu correto reconhecimento, uma vez que mesmo que a função sistólica esteja preservada, não significa que não esteja ocorrendo repercussões hemodinâmicas.

**Agradecimentos:** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Autor principal bolsista FAPERJ.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAVANO, D.; DICKSON, D.; PARIAT, R.; STILLMAN, M.; RICHMAN, M. Tricuspid annular plane systolic excursion-to-aortic ratio provides a bodyweight-independent measure of right ventricular systolic function in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology*, V.20(2), P.79-91.
- CHETROU, V. Normal echocardiographic examination. In: *Clinical Echocardiography of the dog and cat*. Thineve, St. Louis, Missouri, 315p. 2016.
- LABARTHE, N. V.; PAIVA, J. P.; CAMPOS, J. R. M. DIROFILARIOSE. In: *Matozinhos, C. B. Doenças transmitidas e causadas por artopódios*. Atheneu, Rio de Janeiro, p.283-299, 2009.
- LABARTHE, N.V.; PAIVA, J.P.; REEFUR, L.; MENDES-DE-ALMEIDA, R.; MERLO, A.; CARVALHO PINTO, C.J.; JULIANI, P.S.; DE ALMEIDA, M.A.; ADRES, L.C. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. *Parasites and Vectors*, v. 7, p. 493, 2014.
- MARION, E. Dirofilariose: Specific bidimensional aspects. In: *Clinical Echocardiography of the dog and cat*. Elsevier, St. Louis, Missouri, 345p. 2016.
- MORITA, T.; NAKAMURA, K.; OZUGA, T.; YOKOMURA, N.; MORISAKA, K.; SASAKI, N.; OHITA, H.; TAKAGUCHI, M. Changes in right ventricular function assessed by echocardiography in dog models of mild to moderate pulmonary hypertension. *Journal of echocardiography*, V. 34(7), P. 1040-1049, 2017.
- VENCIO, LUIS; MIHAYLOVA, ULVA; BOON, JUNE A. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index): A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension. *Veterinary parasitology*, V.206, P.60-66, 2014.
- YOSER, L. C.; IM, M. K.; JENKINSON, L. R.; STEIN, J. A. Diagnostic Value of Right Pulmonary Artery Distensibility Index in Dogs with Pulmonary Hypertension: Comparison with Doppler Echocardiographic Estimates of Pulmonary Arterial Pressure. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 30(12), P.543-553, 2017.

Anexo F. Certificado de premiação de 1º lugar na categoria de Artigo de Pesquisa – Pós graduação na V Semana da pós graduação de medicina veterinária da UFRRJ,



**SAMVET**  
V SEMANA ACADÊMICA DA PÓS  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
DA UFRRJ



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária

**V** Semana Acadêmica da Pós Graduação em Medicina Veterinária  
Mostra de Trabalhos Científicos

## Certificado

Certificamos o 1º Lugar na categoria Artigo de Pesquisa - Pós Graduação aos autores **ALBERIGI, Bruno Ricardo Soares; ABEN ATHAR, Carolina do Valle; LEMOS, Nathalia Marques de Oliveira; LABARTHE, Norma Vollmer; PAIVA, Jonimar Pereira**, na premiação do trabalho intitulado “**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA VENTRICULAR DIREITA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *Dirofilaria immitis* (Leydi, 1856)**”, durante a V Mostra de Trabalhos Científicos, ocorrido na V Semana Acadêmica de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro promovida pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), no dia 26 de Outubro de 2018.

Seropédica, 26 de Outubro de 2018

  
Vivian de Assunção Nogueira  
Carvalho Coordenadora PPGMV

  
Rita de Cássia Campbell Machado Botteon  
Coordenadora Docente V SAMVet

  
Mário dos Santos Filho  
Coordenador Discente V SAMVet

Anexo G. Apresentação de trabalho científico em forma de banner, no 27th Conference of the World Association for the Advancements of Veterinary Parasitology (WAAVP-2019).



## Canine Heartworm Treatment Using a Combination of ProHeart® SR-12 (injectable moxidectin) and Oral Doxycycline

Alberigi, B.<sup>1</sup>; Fernandes, J.I.<sup>2</sup>; Paiva, J.P.<sup>3</sup>; Mendes-de-Almeida<sup>4</sup>, F; Batalha<sup>4</sup>, F.K.; Merlo, A.<sup>5</sup>; Labarthe, N.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doctorate, MSc Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária PPGMV/UFRRJ, Seropédica, Brazil; <sup>2</sup>Professor, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, UFRRJ, Seropédica, Brazil; <sup>3</sup>Professor, Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, UFF, Niterói, Brazil; <sup>4</sup>Professor, Universidade do Grande Rio, UNIGRANRIO, Duque de Caxias, Brazil; <sup>5</sup>Technical Manager, MSc, Zootia, São Paulo, Brazil; <sup>6</sup>Professor, Programa de Pós-Graduação em Biotécnicas, Ética Aplicada e Saúde Coletiva, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

### Introduction

Dogs infected with *Dirofilaria immitis* may develop a life-threatening disease affecting the heart and lungs. Treatment should focus on the elimination of the adult worms as soon as possible after diagnosis of infection, as this will minimize side effects from killing of the worms. ProHeart® SR-12 is approved in Australia, Japan and some Latin American countries for the prevention of heartworm disease for 12 months via a single subcutaneous injection. The aim of this study was to evaluate safety and efficacy of the biannual treatment with slow release moxidectin (ProHeart® SR-12) associated with 30 days cycles of doxycycline (Doxifin®).

### Material and Methods

After obtaining owners consent, 16 naturally infected dogs were confirmed positive for adult heartworm antigen (SNAP 4Dx Plus). Dogs were then administered ProHeart® SR-12 (0.5 mg/kg) at the same time as they started daily administration of doxycycline (10 mg/kg BID) for 30 days. All dogs received the same dosing schedule of both drugs every 6 months until two negative adult heartworm antigen tests were obtained 6 months apart (Figure 1).

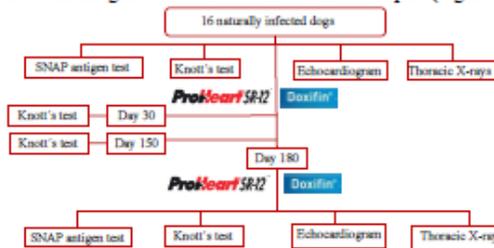


Figure 1. Procedures performed throughout the treatment of naturally *Dirofilaria immitis* infected dogs with ProHeart® SR-12 and Doxycycline.

### Results

At day 0, the majority (87.2%) of the animals were microfilaremic (14/16) and the mean microfilariae concentration was 21.782mf/mL. At 30 days of treatment the mean concentration was reduced to 8.151 mf/ mL (Figure 2) and on day 150 all animals were microfilaricemic.

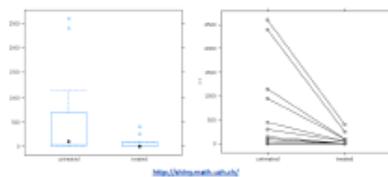


Figure 2. Microfilaria counts before treatment and 30 days after treatment with ProHeart® SR-12 and doxycycline.

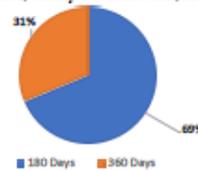


Figure 3. Number of days needed for heartworm antigen positive dogs treated with ProHeart® SR-12 + doxycycline biannually to become heartworm antigen negative.

Most of the heartworm antigen positive dogs became heartworm antigen negative in 180 days (11/16) and the remaining dogs (5/16) became heartworm antigen negative in 360 days (Figure 3). All animals that seroconverted to antigen negative maintained their serological status six months later.

There was improvement of lung pattern in 69% of the animals (11/16) and no worsening of the remaining dogs (Figure 4). The clinical status of the dogs improved (75% - 12/16) or remained unchanged during the treatment (25% - 4/16).



Figure 4. A. Thoracic radiograph at day 0 evidencing increased diffuse deminification of pulmonary parenchyma, increased vascular pattern, presence of increased caliber of caudal lobar pulmonary artery (white arrow), increase of main pulmonary artery (yellow arrow) and right atrial enlargement (blue arrow). B. Thoracic X-ray of the same animal 360 days of treatment, with improvement in the diffuse deminification of the pulmonary parenchyma, reduction of caliber of the caudal lobar pulmonary artery (white arrow), although the right atrium and pulmonary trunk were not altered.

### Conclusion

According to the results it can be concluded that the treatment of canine heartworm using ProHeart® SR-12 and doxycycline biannually was safe and efficacious and that this protocol is a valid alternative when the standard adulticidal treatment can not be used due to the patient's clinical conditions or in countries where melarsomine dihydrochloride is unavailable.

